

|      |
|------|
| 연구자료 |
| 센터   |

# 건강진단 기준상 유해물질 분석법의 표준화에 관한 연구 (II)

Analytical Methods for  
Biological Monitoring (II)

1998

한국산업안전공단  
산업안전보건연구원

## 제 출 문

한국산업안전공단 이사장 귀하

본 연구를 1998년도 산업안전보건연구원의 연구사업중 “건강진단 기준상 유해물질 분석법의 표준화에 관한 연구 (II)”에 대한 최종 결과 보고서로 제출합니다.

1998년 12월 31일

제출자 : 산업안전보건연구원장 문 영 한

연구책임자 : 책임연구원 양 정 선

공동연구자 : 선임연구원 이 미 영

연구원 박 인 정

# 목 차

|                                              |      |
|----------------------------------------------|------|
| 머리말(I)                                       | I-1  |
| 머리말(II)                                      | II-1 |
| 용어의 정의                                       | II-4 |
| 분석장비 개요                                      | II-7 |
| I. 서론 - 생물학적 모니터링                            |      |
| 1. 노출량 평가                                    | I-3  |
| 2. 영향, 감수성 평가                                | I-5  |
| 3. 약물동력학적 요인                                 | I-6  |
| 4. 생물학적 모니터링 수행의 필요 요건                       | I-8  |
| II. 무기분석 이론 -원자흡수분광광도법                       |      |
| 1. 원리 및 이론                                   | I-18 |
| 2. 기기                                        | I-20 |
| 3. 방해영향                                      | I-26 |
| 4. 응용                                        | I-29 |
| III. 무기분석 각론                                 |      |
| 1. 납                                         |      |
| 1) 전혈중 납(비불꽃법)                               | I-36 |
| 2) 소변중 납(개요)                                 | I-38 |
| 3) 혈장중 delta-aminolevulinic acid (delta-ALA) |      |

|                                                  |       |
|--------------------------------------------------|-------|
|                                                  | I-40  |
| 4) 혈중 P-5-N(pyrimidine 5' nucleotidase) activity |       |
|                                                  | I-43  |
| 5) 전혈중 납(불꽃법)                                    | II-10 |
| 6) 소변중 납(비불꽃법)                                   | II-16 |
| 7) 소변중 납(불꽃법)                                    | II-23 |
| 2. 카드뮴                                           |       |
| 1) 전혈중 카드뮴                                       | I-47  |
| 2) 소변중 카드뮴                                       | I-49  |
| 3. 크롬                                            |       |
| 1) 혈청중 크롬                                        | I-53  |
| 2) 소변중 크롬                                        | I-55  |
| 4. 망간                                            |       |
| 1) 전혈중 망간                                        | I-58  |
| 2) 소변중 망간                                        | I-60  |
| 5. 수은                                            |       |
| 1) 소변중 수은(환원증기 AAS법)                             | II-28 |
| 2) 전혈중 수은                                        | I-64  |
| 6. 니켈                                            |       |
| 1) 소변중 니켈(비불꽃 AAS법)                              | II-35 |
| 2) 소변중 니켈(불꽃 AAS법)                               | II-42 |
| 7. 비소                                            |       |
| 1) 소변중 비소(환원증기 AAS법)                             | II-47 |
| 8. 코발트                                           |       |

|                                           |       |
|-------------------------------------------|-------|
| 1) 소변중 코발트(비불꽃 AAS법)                      | II-53 |
| IV. 유기분석 이론 - 크로마토그래피                     |       |
| 1. 기초원리 및 이론                              | I-74  |
| 2. 기기                                     | I-97  |
| 3. 응용                                     | I-110 |
| V. 유기분석(Organic Analysis) 각론              |       |
| 1. 톨루엔                                    |       |
| 1) 혈중톨루엔                                  | I-124 |
| 2) 요중마뇨산, 만델린산, 페닐글리옥실산, 메틸마뇨산<br>(HPLC법) | I-128 |
| 3) 요중마뇨산(UV법)                             | I-130 |
| 4) 요중o-,m-,p-크레졸                          | I-132 |
| 5) 요중마뇨산, 만델린산, 메틸마뇨산등(GC법)               | II-60 |
| 2. 스티렌                                    |       |
| 1) 혈중스티렌                                  | I-135 |
| 2) 요중만델린산,페닐글리옥실산                         | I-137 |
| 3. 크실렌                                    |       |
| 1) 혈중크실렌                                  | I-139 |
| 2) 요중메틸마뇨산                                | I-142 |
| 4. 벤젠                                     |       |
| 1) 요중 t,t-muconic acid                    | I-144 |

|                                                       |       |
|-------------------------------------------------------|-------|
| 2) 요중 페놀                                              | I-147 |
| 3) 요중 S-phenylmercapturic acid                        | II-66 |
| 5. Trichloroethylene                                  |       |
| 1) 혈중삼염화에탄올                                           | I-149 |
| 2) 요중 삼염화초산, 총3염화물(GC-헤드스페이스법)                        | I-152 |
| 3) 요중 총삼염화물(UV법)                                      | II-72 |
| 4) 요중 삼염화초산(UV법)                                      | II-76 |
| 6. 알콜,케톤류                                             |       |
| 1) 요중메틸알코올, 에틸알코올, 이소프로필알코올, 아세톤,<br>메틸에틸케톤, 메틸이소부틸케톤 | I-155 |
| 7. 헥산                                                 |       |
| 1) 요중2,5-hexanedione                                  | I-158 |
| 8. 디메틸포름아미드                                           |       |
| 1) 요중N-methylformamide(NMF)                           | I-161 |
| 9. 디메틸아세트아마이드                                         |       |
| 1) 요중 N-methylacetamide(NMAC)                         | II-77 |

## 머 리 말(II)

이 연구는 생물학적 모니터링을 위한 생체시료중의 유해물질 자체나 유해물질의 대사산물, 생화학적 변이산물등의 생체지표물질의 분석법에 관한 연구보고입니다.

현재 근로자 특수건강진단의 생물학적 모니터링과 관련하여 해당 유해물질의 각 지표물질의 분석방법이 확립되어 있지 않아 실험실 데이터의 신뢰도가 떨어지는 등의 문제점이 있었습니다. 일부 항목에 대해서는 확립된 공정시험법에 의해 정도관리가 이루어지고 있기는 하지만 아직 많은 항목들은 공정시험법이 제시되어있지 않습니다. 이 보고서(II)는 보고서(I)에 이어 우리나라 실험실에서 많이 분석이 되고있는 항목들을 중심으로 구체적인 프로토콜을 제시하여 특수건강진단 기관 및 관련 실험실의 분석 실무자에게 도움을 주기 위하여 만들었습니다.

이 보고서(II)에 실린 분석법들은 보고서(I)에서와 마찬가지로, 대부분 다른 연구자들이 보고한 논문을 기초로 우리 실험실에서 실제 실험해 보고 수정하여 우리나라의 실험실에서 수행할 수 있도록 보완한 것입니다. 그러므로 이 보고서에 실린 분석법은 단순히 논문들을 번역해 놓은 것이 아니라 다른 실험자가 따라할 수 있도록 표준시료의 조제, 시료 전처리 방법 등을 자세히 설명한 것입니다.

분석법 항목선정의 기준은

- 1) 관련 문헌 등에서 분석방법이 확립되어 있는 항목,

2) 노출기준을 제시할 수 있는 국내외의 적절한 문헌이 있어서 분석데이터에 생물학적 의미를 부여할 수 있는 항목,

3) 우리나라 근로자에게 많이 노출되고 있는 항목 등을 우선적으로 검토하였습니다.

이 기준은 '98. 1.30. 이후 생물학적 기준치 제정위원회에서 검토한 '우리나라 생물학적 모니터링 실시기준(안)'에서 제시하고 있는 지표물질의 선정기준과 동일합니다. 그 이외에도 분석데이터에 대한 생물학적 의미에 대한 문헌은 불충분하지만, 실험실적으로 분석방법의 제시가 가능한 항목에 대해서는, 가능한 분석법을 제시하였습니다.

한 항목에 대하여 여러 가지 분석법이 제시되어 있는 경우는 가능한 간단하고 데이터의 신뢰성이 높은 방법을 모두 실었습니다. 그러나 우리나라 실험실이 보유하고 있는 기기들의 형편을 감안하여 가장 좋은 분석법은 아니더라도 현재 우리나라 실험실 등에서 보유하고 기기를 가지고 분석할 수 있는 방법도 추가로 실었습니다. 보고서(I)과 (II)에 빠져 있는 생물학적 모니터링 관련 항목들에 대해서는 추가 실험이 계속되는 대로 보고서(III)를 통하여 정리하고자 합니다.

보고서 (I)에서 많은 지면을 할애하였던 생물학적 모니터링에 관한 서론과 분석기기의 원리와 응용 등을 설명한 총론은 보고서 (I)를 참조하도록 하고 중복되게 기술하지 않았습니다. 단지 간략하게 용어의 정의와 분석장비의 개요를 실었습니다. 또한 보고서 (I)에서 별도의 프로토콜을 부록을 만들어 제시하였으나 보고서 (II)에서는 각 항목별 각론에 포함시켜 기술하였고 따로 부록을



만들지 않았습니다.

이곳에 실린 분석법은 KISCO CODE화하여 기술지침으로 특수건강진단 기관 및 관련 실험실에 보급하여, 분석 실무자들이 신뢰성 있는 데이터를 내고 궁극적으로 근로자들에 대한 신뢰성 있는 특수건강진단과 보건관리에 도움을 주고자 합니다. 또한 여기 실린 분석법들은 분석법의 발달에 따라 계속적인 실험을 통해서 수시로 수정, 보완될 것입니다. 분석법에 관한 최신의 파일들은 산업안전보건연구원 직업병연구센터 분석실의 홈페이지 (<http://home.kisco.or.kr/~pelle69/>)에서 다운받을 수 있습니다.

1998. 12. 20. 양 정선

## 용어의 정의

### 1 생물학적 모니터링

혈액, 소변 등 생체시료로부터 유해물질 자체 또는 유해물질의 대사산물, 또는 생화학적 변화산물 등을 분석하여, 유해물질 노출에 의한 체내 흡수정도 또는 건강영향 가능성 등을 평가하는 것을 말한다.

### 2 생체지표물질

생물학적 모니터링을 실시함에 있어 생체 흡수정도를 반영하는 물질로서 유해물질 자체나 그 대사산물, 생화학적 변화물 등을 말한다.

### 3 정밀도(Precision)

일정한 물질에 대해 반복측정·분석을 했을 때 나타나는 자료분석치의 변동크기가 얼마나 작은가를 말한다. 동일 조건에서 측정했을 때 일어나는 우연오차(random error)에 의한 산재(dispersion)의 정도로서, 측정값의 상대표준편차로 표시된다.

### 4 정확도(Accuracy)

분석치가 참값에 얼마나 접근하였는가 하는 수치상의 표현이다. 인증표준물질이 있는 경우는 상대오차로 표시된다. 인증표준물질

이 없는 경우는 실험실적인 첨가에 의한 값으로부터 평균회수율로 표시한다.

## 5 검출한계(Limit of Detection: LOD)

공시료 신호값(blank signal, background signal)과 통계적으로 유의하게 다른 신호값(signal)을 나타낼 수 있는 최소의 농도를 말한다. 여기서는 가장 널리 쓰이는 대로 공시료 신호값과의 차이가 공시료 신호값 표준편차의 3배인 경우로 한다. 즉,

$$y - y_B = 3S_B$$

(여기서  $y$  : 공시료 신호값과 통계적으로 유의하게 다른 신호값,  
 $y_B$  : 공시료 신호값,  
 $S_B$  : 공시료 신호값의 표준편차)

따라서 신호값이  $3S_B + y_B$ 일 때의 물질의 농도가 검출한계가 된다.

$S_B$ 와  $y_B$ 는 최소자승법에 의한 검량선으로부터 구해진다. 최소자승법의 기본 가정은 플롯의 각 점의  $y$  축 방향 변이가 정규분포하며, 그 표준편차 추정치는  $S_{y/x}$ 로 일정하다는 것이다. 따라서, 시간을 많이 들여가면서 공시험을 여러번 하여  $S_B$  값을 따로 구하기보다는  $S_{y/x}$ 를  $S_B$  값으로 이용하는 것이 편리하다.  $S_{y/x}$ 는 다음과 같이 구해진다.

$$S_{y/x} = \left\{ \frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2} \right\}^{\frac{1}{2}}$$

(여기서  $\hat{y}_i = bx_i + a$  )

$y_B$ 는 공시료의 신호값이므로 최소자승법에서 구해진  $y$ 절편 값을  
대입하면 된다.

## 분석장비 개요

### 1 원자흡광광도계(Atomic Absorption Spectrometer: AAS)

시료성분중 포함된 금속 이온을 고온으로 원자화시켜, 생성되는 원자가 흡수하는 특수 파장의 빛의 양을 이용하여, 표준시료에 대한 상대적인 값으로 함유된 금속의 양을 측정하는 분석장비이다. 원자화시키는 방법에 따라 불꽃으로 고온을 형성하여 원자화시키는 경우를 불꽃법이라 하고, 전기적 열로 흑연로를 가열하여 원자화시키는 경우는 비불꽃법이라 한다.

### 2 고속액체크로마토그래피(High Performance Liquid Chromatography: HPLC)

크로마토그래피란 시료성분 중 존재하는 여러 물질들이 서로 다른 친화력으로 고정상과 상호작용하면서 칼럼에 머무르는 시간의 차이에 의하여 순차적으로 분리시키는 장치이다. 시료성분을 고정상이 충전된 칼럼으로 밀어 넣어 주는 역할을 하는 이동상으로 액체를 사용하는 경우, 액체크로마토그래피라고 한다. 이동상인 액체를 고정상이 미세하게 충전되어 있는 칼럼으로 밀어 보내려면 고성능 펌프가 필요하게 되며, 이와같이 펌프에 의해 균일한 고압으로 작동되는 액체크로마토그래피를 고속액체크로마토그래피라고 한다. 분리되어 나오는 성분의 양은 검출기에서 표준시료에 대한 상대적인 값으로부터 산출한다.

### 3. 가스크로마토그래피(Gas Chromatography: GC)

크로마토그래피란 시료성분중 존재하는 여러 물질들이 서로 다른 친화력으로 고정상과 상호작용하면서 칼럼에 머무르는 시간의 차이에 의하여 순차적으로 분리시키는 장치이다. 시료성분을 고정상이 충전된 칼럼으로 밀어 넣어주는 역할을 하는 이동상으로 기체를 사용하는 경우, 가스크로마토그래피라고 한다. 분리되어 나오는 성분의 양은 검출기에서 표준시료에 대한 상대적인 값으로부터 산출한다.

#### 4. 불꽃이온화 검출기(Flame Ionization Detector: FID)

가장 일반적인 가스크로마토그래피용 검출기이다. 수소와 산소(공기)의 불꽃에서 시료를 태웠을 때 전하를 띤 이온을 생성하는 물질에 대해서 감응하도록 설계되어 있다. 기체의 전기전도도는 기체중 전하를 띤 입자의 농도에 비례하므로 기체농도의 표준물질과의 상대적인 피크 면적비로부터 시료 농도를 산출한다. 대부분의 유기화합물은 이 불꽃의 온도에서 열분해되어 이온성 중간체를 형성하므로 불꽃을 통해 이온 전류를 측정할 수 있다.

카르보닐 또는 카르복실기와 같이 완전히 산화된 탄소 및 에테르와 같은 물질에는 감응하지 않으며, 할로젠, 아민, 히드록실기 등의 치환체가 증가함에 따라 감응정도는 감소한다. 또한 이황화탄소 등 무기화합물은 감응하지 않기 때문에 탈착용매로 사용하면 유리하다.

#### 5. 자외-가시부 분광광도계(UV-Visible spectrometer: UV)

시료성분이 자외-가시부 영역의 특정 파장의 빛을 흡수하는

정도의 차이를 표준시료에 대한 상대적인 값으로 산출한다.

## 무 기 분 석

### 1. 납(Lead)

1) 전혈중 납(비불꽃법) : I-36

2) 소변중 납(개요): I-38

3) 혈장중  $\delta$ -ALA: I-40

4) 전혈중 P5N 활성도 :I-43

5) 전혈중 납(불꽃법)

#### 가. 분석 원리

불꽃방법에 의한 원자화는 시료용액을 작은 방울로 분산(nebulize)시켜 고온의 불꽃에서 용매를 증발, 화합물을 열분해하고 증기상태의 원자를 생성시키는 방법에 의해 이루어진다. 원자화 효율은 분산되는 입자방울의 크기(drop size)에 좌우되는데, 혈중 납을 불꽃법으로 검출하기 위해서는 감도를 높이기 위해 혈액 시료에 킬레이트시약을 가하여 킬레이트를 형성시킨 다음 적당한 용매로 추출하여 분무시키는 용매추출법을 사용한다.

시료소모량이 많아 채혈량이 10 cc 이상이어야 하며 감도가 떨어지는 단점 때문에 비불꽃법만큼 권장되지 않으나, 재현성과 고농도( $20 \mu\text{g/dl}$  이상)에서의 정확도는 우수하다.



#### 나. 시료의 채취

근로자의 정맥혈을 납이 포함되지 않은(Lead-free) EDTA가 미리 처리된 튜브와 1회용 주사기를 이용하여 10 cc 이상 채취한다. 채취시간은 작업 전, 작업 중, 작업 후 아무 때나 상관없다. 4 °C의 아이스박스를 이용하여 실험실로 이송한다. 4 °C에서 3주, 밀봉하여 -20 °C에서 보관하면 장기간 보관이 가능하다. 냉동 보관 후 해동하여 분석용 시료를 취하면 균질하고 대표성있는 시료의 채취가 가능하다

#### 다. 기구 및 시약

##### (1) 기구세척 및 시약 준비

사용하는 모든 초자기구는 20% 질산에 4시간 이상 담가두었다가 탈이온수로 7회 행구어 사용한다. 탈이온수는 초순수제조장치로 제조한 비저항 18 MΩ의 것을 사용하거나 원자흡광광도계용 탈이온수를 구입하여 사용하며, Triton X-100, 1000 ppm Pb 표준용액과 질산 등은 특급제품을 사용한다.

##### (2) 기기 및 기구

용량플라스크: 1000 ml 1개, 100 ml 1개, 10 ml 4개

피펫: 1 ml

마개달린 시험관: 20ml들이

화학저울

초음파세척기 (Ultrasonicator)

와류혼합기

원심분리기

불꽃원자흡광광도계: 공기-아세틸렌 불꽃, Pb 분석용 램프

(3) 시약

탈이온수

트리톤 X-100 (Triton X-100)

암모늄 피롤리딘 디치오카바메이트

(Ammonium pyrrolidine dithiocarbamate, APDC)

메틸이소부틸케톤 (Methyl isobutyl ketone, MIBK)

Pb 표준용액 (1000ppm)

라. 시약 조제

(1) 반응시약 조제

① APDC-TX 용액 조제:

APDC 2g에 탈이온수를 약 20ml 가하여 잘 녹인다. 여기에 트리톤 X-100 2.5ml를 가하여 거품이 나지 않도록 초음파세척기로 잘 녹인다. 최종적으로 탈이온수를 가해 전체 부피를 100ml로 한다. 2개월간 안정하다.

② 물로 포화된 MIBK 조제:

MIBK : 탈이온수 = 900 : 100 의 비율로 넣은 후 강하게 흔든다. 1시간 이상 방치한 후 탈이온수층(하층액)은 버리고 MIBK층(상층액)을 사용한다.

(2) Pb 표준용액 조제

① Pb 1000ppm 원액 1ml를 100ml 되도록 탈이온수로 희석하여 Pb 1000  $\mu\text{g}/\text{dl}$  표준용액을 만든다. 이것을 원용액(stock

solution)으로 한다.

② Pb 1000  $\mu\text{g}/\text{dl}$  원용액을 다음과 같이 탈이온수로 희석하여 Pb 20, 40, 60, 80  $\mu\text{g}/\text{dl}$  표준용액을 만든다.

| 번호 | Pb 표준용액 농도 |                         | 조제법      |              |
|----|------------|-------------------------|----------|--------------|
|    | ppm        | $\mu\text{g}/\text{dl}$ | 원용액 (ml) | 탈이온수         |
| 1  | 0.2        | 20                      | 2        | 표선 100ml 되도록 |
| 2  | 0.4        | 40                      | 4        | 표선 100ml 되도록 |
| 3  | 0.6        | 60                      | 6        | 표선 100ml 되도록 |
| 4  | 0.8        | 80                      | 8        | 표선 100ml 되도록 |

마. 시료 및 표준용액 전처리

(1) 검량선 작성용 표준용액 및 공시료 처리

마개달린 시험관에 표준용액 (공시료의 경우 탈이온수) 4ml를 취한다. APDC-TX 용액 1.2ml를 가하고 와류혼합기로 1분간 혼합한다. 물로 포화된 MIBK 2ml를 가하여 와류혼합기로 2분간 혼합한 후 5000rpm, 10분간 원심분리한다. 20분 이내에 상층액을 불꽃원자흡광광도계에 주입하여 분석한다.

(2) 시료 혈액 처리

표준용액 및 공시료와 같다.

## 바. 기기조건

분석파장 283.3nm 에서 분석한다.

### (1) 방법(Method) 모드 선택

기기모드(*Instrument mode*): 흡수도(*Absorbance*)

검량선작성모드(*Calibration mode*): 농도(*Concentration*)

### (2) 기기 파라미터(*Instrument parameters*)

램프전류(*Lamp current*): 5mA

슬릿너비(*Slit width*): 0.5nm

슬릿높이(*Slit height*): 보통(*Normal*)

파장(*Wavelength*): 283.3nm

시료주입(*Sample introduction*): 수동(*Manual*)

바탕보정(*Background correction*): ON

### (3) 바탕 보정

공시료로 기기영점을 잡고 측정한다.

## 사. 정도관리

### (1) 정밀도(Precision)

20 - 80  $\mu\text{g}/\text{dl}$  농도 수준에서 상대표준편차 5 %임.

### (2) 정확도(Accuracy)

$\pm 10.8\%$

(3) 실험실간 외부정도관리 프로그램 및 표준시료: 산업안전보건  
연구원 특수건강진단기관 분석정도관리 프로그램 무기분석분야.

(4) 검출한계

15 - 20  $\mu\text{g}/\text{d}\ell$

아. 참고문헌

(1) Working Group Analytical Chemistry, edited by J. Angerer  
and K.H. Schaller, Analyses of Hazardous substances in  
biological materials; Lead, voll, p155, VCH(Weinheim,  
Germany), 1994

(2) NIOSH Manual of analytical methods, method 8003, Lead  
by HGAAS, 4th edition, 1994

(3) WHO/HPR/OCH, Biological monitoring of chemical  
exposure in the workplace; Inorganic lead, p.112, 1996

(4) J.S.Yang, M.Y.Lee, I.J.Park, Y.H.Moon, and S.K.Kang,  
Korean analytical quality assurance(KAQUA) program for  
biological monitoring, Int. Arch. Occup. Environ. Health, 69/5,  
p.361-366, 1997

## 6) 소변중 납 (비불꽃법)

### 가. 분석 원리

소변중 납을 분석하는 조건은 혈중 납을 분석하는 방법과 크게 다르지 않다. 그러나 소변중 함유된 납의 양이 미량이고 납의 분자흡광계수가 다른 원소에 비하여 작아 정확도와 재현성이 떨어진다. 소변의 바탕보정이 필요하다. 시료에 산을 첨가하여 미리 마이크로파를 이용하여 분해한 후 흑연로에 도입하는 방법도 있으나 여기서는 매트릭변형시약(Matrix modifier)을 사용하는 방법에 대해서 기술하였다.

### 나. 시료의 채취

소변채취용 용기는 미리 20% 질산에 4시간 이상 담가두었다가 탈이온수로 7회 행구어 사용한다. 시료채취시는 작업복을 갈아입은 후 비누로 손을 세척하도록 하며 채뇨직후 뚜껑을 막아서 가져오도록 한다. 채취시간은 작업 전, 작업 중, 작업 후 아무 때나 상관없으나 오염을 막기 위하여 작업복을 갈아입은 상태인 작업전이나 후가 좋다. 시료는 4 °C의 아이스박스를 이용하여 실험실로 이송한다. 4 °C에서 3주, 밀봉하여 -20 °C에서 보관하면 장기간 보관이 가능하다.

### 다. 기구 및 시약

#### (1) 기구세척 및 시약 준비

사용하는 모든 초자기구는 20% 질산에 4시간 이상 담가두었

다가 탈이온수로 7회 행구어 사용한다. 원자흡광광도계는 흑연로 장치가 부착된 중수소(D<sub>2</sub>) 램프 또는 지만(Zeeman) 바탕보정 방식의 기기를 사용한다. 흑연튜브는 pyrolytic coated partitioned tube를 사용한다.

탈이온수는 초순수제조장치로 제조한 비저항 18 MΩ의 것을 사용하거나 원자흡광광도계용 탈이온수를 구입하여 사용하며, 사용하는 시약은 특급시약을 사용한다.

## (2) 기기 및 기구

용량플라스크: 500 ml 2개, 100 ml 1개, 10 ml 4개

파이렉스유리 용량플라스크: 5 ml 10개

피펫: 1 ml

분취기(Dispenser): 0.4 - 2.0 ml

시험관(Dilution tube)

자석교반기(magnetic stirrer)

흑연로가 장착된 원자흡광광도계

## (3) 시약

탈이온수

트리톤 X-100

인산암모늄(NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)

납 표준용액(1000ppm)

질산(HNO<sub>3</sub>)

## 라. 시약 조제

### (1) 매질변형시약(Matrix modifier)의 조제

500 mL의 용량플라스크에 약 400 mL의 탈이온수에 25mL의 20%  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 와 1mL의 진한 질산을 가한 후 500mL의 표선을 맞춘다.

## (2) 납 표준용액 조제

① 납 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  원액 1 mL를 2% 질산용액으로 100 mL로 희석하여 납 10000  $\mu\text{g}/\text{L}$  표준용액을 만든다. 이것을 원용액(stock solution)으로 한다.

② 납 10000  $\mu\text{g}/\text{L}$  원용액을 다음과 같이 2% 질산용액으로 희석하여 납 100, 200, 300, 400  $\mu\text{g}/\text{L}$ 의 표준용액을 만든다.

| 번호 | Pb 표준용액 농도 |                        | 조제법     |             |
|----|------------|------------------------|---------|-------------|
|    | ppm        | $\mu\text{g}/\text{L}$ | 원용액(mL) | 2% 질산용액     |
| 0  | 0          | 0                      |         | 2% 질산용액     |
| 1  | 0.1        | 100                    | 0.1     | 표선 10mL 되도록 |
| 2  | 0.2        | 200                    | 0.2     | 표선 10mL 되도록 |
| 3  | 0.3        | 300                    | 0.3     | 표선 10mL 되도록 |
| 4  | 0.4        | 400                    | 0.4     | 표선 10mL 되도록 |

## 마. 시료 및 표준용액 전처리

### (1) 검량선 작성용 소변 처리[표준물 첨가법]

매질변형시약 0.8 mL에 Pb 표준용액 0.1 mL, 정상인 소변 0.1 mL를 가하여 잘 섞어 표준물 첨가법에 의한 검량선 작성용 시료로 한다.



표. 표준물 첨가법에 의한 검량선 작성

| 시료번호       | 희석액<br>(ml) | 소변<br>(ml) | Pb 표준용액<br>(용액 번호) | 소변중 납 농도<br>(μg/L) |           |
|------------|-------------|------------|--------------------|--------------------|-----------|
| addition 0 | 0.8         | 0.1        | 0                  | 0.1                | $x + 0$   |
| addition 1 | 0.8         | 0.1        | 1                  | 0.1                | $x + 100$ |
| addition 2 | 0.8         | 0.1        | 2                  | 0.1                | $x + 200$ |
| addition 3 | 0.8         | 0.1        | 3                  | 0.1                | $x + 300$ |
| addition 4 | 0.8         | 0.1        | 4                  | 0.1                | $x + 400$ |

$x$ : 공시료 소변에 기포함되어있는 납의 양. 검량선에서  $x$ 절편값으로부터 구해진다.

## (2) 시료소변 처리

냉동 후 해동한 소변은 자석교반기로 교반하면서 위 표 addition 0과 같이 희석하여 이 용액을  $15\ \mu\text{l}$  취하여 원자흡광광도계의 흑연로에 도입한다.

## 바. 기기조건

분석파장은  $283.3\ \text{nm}$ , 램프 전류는  $5\ \text{mA}$ , 슬릿 나비는  $0.5\ \text{nm}$ , 슬릿 높이는 보통(Normal)이며, 중수소( $\text{D}_2$ ) 램프 또는 지만(Zeeman) 바탕보정을 한다. 자동시료주입기 또는 수동으로  $15 - 25\ \mu\text{l}$ 의 시료를 흑연튜브에 주입한다.

- (1) 방법(Method) 모드 선택  
기기모드(*Instrument mode*): 흡수도(*Absorbance*)  
검량선작성모드(*Calibration mode*): 표준물첨가법  
(*Standard addition*)  
측정모드(*Measurement mode*): 피이크 높이(*Peak height*)
- (2) 기기 파라미터(*Instrument parameters*)  
램프전류(*Lamp current*): 5.0mA  
슬릿너비(*Slit width*): 0.5nm  
슬릿높이(*Slit height*): 보통(*Normal*)  
파장(*Wavelength*): 283.3nm  
시료주입(*Sample introduction*): 시료사전혼합모드  
(*Sampler premixed*)  
바탕보정(*Background correction*): ON
- (3) 주입부 파라미터(*Sampler parameter*)  
시료주입량(*Sample volume*): 15  $\mu\ell$
- (4) 바탕 보정  
중수소(D<sub>2</sub>) 램프 또는 지만(Zeeman) 바탕보정을 하고 매질변형시약으로 기기영점(*Instrument zero*)을 잡고 측정한다.
- (5) 흑연로 조건  
흑연로 조건은 표와 같다. 이 조건은 사용하고 있는 기기의 사용설명서를 참고하여 최적 조건을 찾아야 한다.

표. 소변중 납 분석을 위한 원자흡광광도계 흑연로 조건

| 처리과정   | 온도(℃) | 시간(sec) | 아르곤 가스유속<br>(ml/min) |
|--------|-------|---------|----------------------|
| 건조     | 120   | 30      | 300                  |
| 회화1    | 500   | 40      | 3                    |
| 회화2    | 600   | 10      | 3                    |
| 원자화    | 2300  | 3       | 0                    |
| 튜브 열세척 | 2700  | 3       | 3                    |

#### 사. 정도관리

##### (1) 정밀도(Precision)

150 - 400  $\mu\text{g/L}$  농도 수준에서 상대표준편차 15 %임.

##### (2) 정확도(Accuracy)

회수율 93 - 108%

##### (3) 검출한계

15  $\mu\text{g/L}$

#### 아. 참고문헌

(1) K. S. Subramanian, J.-C. Meranger and J. E. MacKeen,  
Graphite furnace atomic absorption spectrometry with matrix

modification for determination of cadmium and lead in human urine, Anal Chem. 55, 1064 – 1067, 1983

(2) AA Instruments at Work, Determination of lead in urine by GFAAS-Deuterium and Zeeman Background Correction, Varian AA-111, 1993

## 7) 소변중 납(AAS법-불꽃법)

### 가. 분석 원리

불꽃방법에 의한 원자화의 기본 원리는 혈중납의 불꽃 AAS법과 같다. 소변중 납을 불꽃 AAS법으로 분석하기 위해서는 소변 시료에 킬레이트시약을 가하여 킬레이트를 형성시킨 다음 적당한 용매로 추출하여 분무시키는 용매추출법을 사용한다.

### 나. 시료의 채취

소변채취용 용기는 미리 20% 질산에 4시간 이상 담가두었다가 탈이온수로 7회 헹구어 사용한다. 시료채취시는 작업복을 갈아입은 후 비누로 손을 세척하도록 하며 채뇨직후 뚜껑을 막아서 가져오도록 한다. 채취시간은 작업 전, 작업 중, 작업 후 아무 때나 상관없으나 오염을 막기 위하여 작업복을 갈아입은 상태인 작업전이나 후가 좋다. 시료는 4 °C의 아이스박스를 이용하여 실험실로 이송한다. 4 °C에서 3주, 밀봉하여 -20 °C에서 보관하면 장기간 보관이 가능하다.

### 다. 기구 및 시약

#### (1) 기구세척 및 시약 준비

사용하는 모든 초자기구는 20% 질산에 4시간 이상 담가두었다가 탈이온수로 7회 헹구어 사용한다. 탈이온수는 초순수제조장치로 제조한 비저항 18 MΩ의 것을 사용하거나 원자흡광광도계용 탈이온수를 구입하여 사용하며, Triton X-100, 1000 ppm Pb 표

준용액과 질산 등은 특급시약을 사용한다.

(2) 기기 및 기구

용량플라스크: 1000 ml 1개, 100 ml 1개, 10 ml 4개

피펫: 1 ml

마개 달린 시험관: 20ml들이

초음파세척기 (Ultrasonicator)

와류혼합기

원심분리기

불꽃원자흡광광도계: 공기-아세틸렌 불꽃, Pb 분석용 램프

(3) 시약

탈이온수

트리톤 X-100 (Triton X-100)

암모늄 피롤리딘 디치오카바메이트

(Ammonium pyrrolidine dithiocarbamate, APDC)

메틸이소부틸케톤 (Methyl isobutyl ketone, MIBK)

Pb 표준용액 (1000 ppm)

라. 시약 조제

(1) 반응시약 조제

① APDC-TX 용액 조제:

APDC 2g에 탈이온수를 약 20ml 가하여 잘 녹인다. 여기에 트리톤 X-100 2.5ml를 가하여 거품이 나지 않도록 초음파세척기로 잘 녹인다. 최종적으로 탈이온수를 가해 전체 부피를 100ml로 한다. 2개월간 안정하다.

② 물로 포화된 MIBK 조제:

MIBK : 탈이온수 = 900 : 100 의 비율로 넣은 후 강하게 흔든다. 1시간 이상 방치한 후 탈이온수층(하층액)은 버리고 MIBK층(상층액)을 사용한다.

(2) Pb 표준용액 조제

① Pb 1000ppm 원액 1ml를 100ml 되도록 탈이온수로 희석하여 Pb 10000  $\mu\text{g/L}$  표준용액을 만든다. 이것을 원용액(stock solution)으로 한다.

② Pb 10000  $\mu\text{g/L}$  원용액을 다음과 같이 탈이온수로 희석하여 Pb 100, 200, 300, 400  $\mu\text{g/L}$  표준용액을 만든다.

| 번호 | Pb 표준용액 농도 |                 | 조제법      |              |
|----|------------|-----------------|----------|--------------|
|    | ppm        | $\mu\text{g/L}$ | 원용액 (ml) | 탈이온수         |
| 1  | 0.1        | 100             | 1        | 표선 100ml 되도록 |
| 2  | 0.2        | 200             | 2        | 표선 100ml 되도록 |
| 3  | 0.3        | 300             | 3        | 표선 100ml 되도록 |
| 4  | 0.4        | 400             | 4        | 표선 100ml 되도록 |

마. 시료 및 표준용액 전처리

(1) 검량선 작성용 표준용액 및 공시료 처리

마개달린 시험관에 표준용액 (공시료의 경우 탈이온수) 4ml를 취한다. APDC-TX 용액 1.2ml를 가하고 와류혼합기로 1분간 흔

합한다. 물로 포화된 MIBK 2ml를 가하여 와류혼합기로 2분간 혼합한 후 5000rpm, 10분간 원심분리한다. 20분 이내에 상층액을 불꽃원자흡광광도계에 주입하여 분석한다.

## (2) 시료 소변 처리

표준용액 및 공시료와 같다.

## 바. 기기조건

분석파장 283.3nm 에서 산화형 공기-아세틸렌 불꽃(lean. blue)에서 분석한다.

### (1) 방법(Method) 모드 선택

기기모드(*Instrument mode*): 흡수도(*Absorbance*)

검량선작성모드(*Calibration mode*): 농도모드  
(*Concentration*)

### (2) 기기 파라미터(*Instrument parameters*)

램프전류(*Lamp current*): 5mA

슬릿너비(*Slit width*): 0.5nm

슬릿높이(*Slit height*): 보통(*Normal*)

파장(*Wavelength*): 283.3nm

시료주입(*Sample introduction*): 수동(*Manual*)

바탕보정(*Background correction*): 켜.(*ON*)

### (3) 바탕 보정



공시료로 기기영점을 잡고 측정한다.

사. 정도관리

(1) 정밀도(Precision)

5 - 150  $\mu\text{g/L}$  농도 수준에서 상대표준편차 5 %임.

(2) 정확도(Accuracy)

$\pm 10.8\%$

(3) 검출한계

50  $\mu\text{g/L}$

아. 참고문헌

(1) NIOSH Manual of analytical methods, method 8003, Lead in blood and urine, 4th edition, 1994

(2) M. Hirata et.al, Correlation between lead in plasma and other indicators of lead exposure among lead-exposed workers, Int. Arch. Occup. Environ. Health, vol 68, 58-63, 1995

## 5. 수은

### 1) 소변중 수은(환원증기 AAS법)

#### 가. 분석원리

휘발성이 커서 불꽃법이나 에너지를 이용한 비불꽃법 등으로 중성원자를 만들기가 부적절한 경우, 적당한 시약을 가하여 화학적인 방법으로 중성원자를 만든 다음 공기를 용액에 넣어넣어서 수은 원자증기를 광로에 내보내 분석한다.

#### 나. 시료의 채취

작업 종료후 일회뇨를 산세척한 용기에 채취한다. 시료는 냉장보관시 3주일, -20도 이하에서 냉동 보관시 6개월 이상 안정하다.

#### 다. 기구 및 시약

##### (1) 기구세척 및 시약 준비

사용하는 모든 초자기구는 20% 질산에 4시간 이상 담가두었다가 탈이온수로 7회 행구어 사용한다. 탈이온수는 초순수제조장치로 제조한 비저항 18 MΩ의 것을 사용하거나 원자흡광광도계용 탈이온수를 구입하여 사용하며, 1000 ppm 수은 표준용액과 Sodium Borohydride ( $\text{NaBH}_4$ ), 수산화나트륨, 과망간산칼륨 ( $\text{KMnO}_4$ ), 질산, 염산, 황산 등은 특급시약을 사용한다.

(2) 기구

Volumetric flask: 1000ml 1개, 500ml 2개, 100ml 3개, 10ml 4개

Autopipet & tip: 100 $\mu$ l, 100-1000 $\mu$ l

Vortex mixer

바이알 또는 시험관: 20ml 이상, 시료갯수 + 표준용액 갯수

(3) 시약

탈이온수

c-HCl(37%)

NaBH<sub>4</sub>

NaOH

KMnO<sub>4</sub>

c-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

c-HNO<sub>3</sub>

NH<sub>2</sub>OH · HCl

Antifoaming agent

Hg 표준용액(1000ppm)

Perkin Elmer AAnalyst 800 - FIMS 400 with WinLab software

라. 시료전처리용 시약조제

(1) Acid solution 조제

|                                    |           |
|------------------------------------|-----------|
| └ c-HNO <sub>3</sub>               | 8.5ml     |
| └ c-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 4.3ml     |
| └ 탈이온수                             | 500ml 되도록 |

(2) 5%  $\text{KMnO}_4$  용액 조제

|                   |           |
|-------------------|-----------|
| ┌ $\text{KMnO}_4$ | 5g        |
| └ 탈이온수            | 100ml 되도록 |

(3) 20%  $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$  용액 조제

|                                           |           |
|-------------------------------------------|-----------|
| ┌ $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ | 20g       |
| └ 탈이온수                                    | 100ml 되도록 |

(4) 3%  $\text{HCl}$

|                         |            |
|-------------------------|------------|
| ┌ c- $\text{HCl}$ (37%) | 81ml       |
| └ 탈이온수                  | 1000ml 되도록 |

(5) 0.2%  $\text{NaBH}_4$  in 0.05%  $\text{NaOH}$  with antifoaming agent [실험당일 조제]

|                     |           |
|---------------------|-----------|
| ┌ $\text{NaOH}$     | 0.25g     |
| ┌ $\text{NaBH}_4$   | 1g        |
| ┌ antifoaming agent | 0.5ml     |
| └ 탈이온수              | 500ml 되도록 |

마. 시료 전처리

① 20ml 정도의 바이알이나 시험관에 요 0.5ml를 취하고 5%  $\text{KMnO}_4$  1ml를 가하여 잘 섞는다.

② acid solution 10ml를 가하여 섞고 3시간 정도 방치한다.

③ 20%  $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$  용액 0.5ml를 가하여 과량의  $\text{KMnO}_4$ 를 환원탈색시킨다.

바.  $\text{Hg}$  표준용액 조제 [실험당일 조제]

①  $\text{Hg}$  1000ppm 원액 0.1ml를 탈이온수로 100ml로 희석하여 1ppm 표준용액을 만든다.

② Hg 1ppm 표준용액을 탈이온수로 희석하여 Hg 10.00, 100.00, 200.00, 300.00 ppb표준용액을 만든다.

| 표준용액 농도<br>ppb = $\mu\text{g}/\ell$ | 조제법           |             |
|-------------------------------------|---------------|-------------|
|                                     | 1ppm 표준용액(ml) | 탈이온수        |
| 10.00                               | 0.1           | 표선 10ml 되도록 |
| 100.00                              | 1             | 표선 10ml 되도록 |
| 200.00                              | 2             | 표선 10ml 되도록 |
| 300.00                              | 3             | 표선 10ml 되도록 |

③ 시료와 똑같이 처리하여 측정용으로 한다 [0.5ml+ 5%  $\text{KMnO}_4$  1ml+ acid solution 10ml + 20%  $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$  0.5ml].

사. 기기조건

(1) Instrument

Wavelength: 253.7nm

Slit width: 0.7

Signal measurement: Peak Height

Sample loop: 500 $\mu\ell$

(2) Flow injection program

| Step    | Time<br>(sec) | Pump1<br>speed | Pump2<br>speed | ValveRead |
|---------|---------------|----------------|----------------|-----------|
| Prefill | 15            | 100            | 120            | Fill      |

|   |    |     |     |        |
|---|----|-----|-----|--------|
| 1 | 17 | 100 | 120 | Fill   |
| 2 | 15 | 0   | 120 | Inject |

---

(3) Agent flow rate

Acid channel: 3% HCl, 유속 9-11ml/min

Reductant channel: 0.2% NaBH<sub>4</sub> in 0.05% NaOH with  
antifoaming agent, 유속 acid \* 1/2

아. 정도관리

(1) 정밀도(Precision)

6 - 38  $\mu\text{g/L}$  농도 수준에서 상대표준편차 1.9 - 6.2 %임.

(2) 정확도(Accuracy)

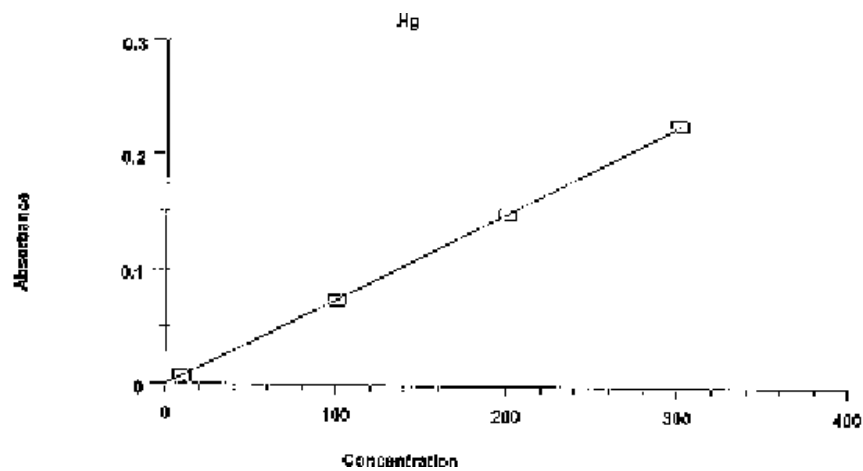
49  $\mu\text{g/L}$  농도 수준에서  $49.8 \pm 4.2$ , 93  $\mu\text{g/L}$  농도 수준에서  
 $105 \pm 8$   $\mu\text{g/L}$

(3) 실험실간 외부정도관리 프로그램 및 표준시료: 산업안전보건연구원 특수건강진단기관 분석정도관리 프로그램 무기분석분야.

(4) 검출한계

0.3  $\mu\text{g/L}$

차. 검량선예시



카. 참고자료

(1) Working Group Analytical Chemistry, edited by J. Angerer and K.H. Schaller, Analyses of Hazardous substances in biological materials; Lead, vol2, p195, VCH(Weinheim, Germany), 1988

(2) WHO/HPR/OCH, Biological monitoring of chemical

exposure in the workplace; Inorganic mercury, p.132, 1996

(3) Flow Injection Mercury/Hydride Analysis Recommended Analytical Conditions and General Information, technical report, Perkin Elmer, 1998



## 6. 니켈

### 1) 소변중 니켈(비불꽃 AAS법)

#### 가. 분석원리

소변중 니켈은 비불꽃 AAS법으로 분석한다. 전처리 방법은 소변을 묽은 질산용액으로 희석한 용액을 흑연로에 주입하여 분석한다.

#### 나. 시료의 채취

소변 중 니켈은 최근의 니켈의 흡수량을 반영한다. 따라서 소변은 당일 작업 종료 후 채취한다. 시료 채취 시 오염되지 않도록 주의한다. 손을 씻은 후 채취하도록 하며 채취 직후 반드시 뚜껑을 닫도록 한다.

#### 다. 기구 및 시약

##### (1) 기구세척 및 시약 준비

사용하는 모든 초자기구는 20% 질산에 4시간 이상 담가두었다가 탈이온수로 7회 행구어 사용한다. 탈이온수는 초순수제조장치로 제조한 비저항 18 MΩ의 것을 사용하거나 원자흡광광도계용 탈이온수를 구입하여 사용하며, 1000 ppm Ni 표준용액과 질산 등은 특급시약을 사용한다.

##### (2) 기기 및 기구

용량플라스크: 1000 ml 1개, 100 ml 1개, 10 ml 4개

피펫: 0.5, 1 ml

마개 달린 원심분리 시험관: 20ml들이

초음파세척기 (Ultrasonicator)

와류혼합기

원자흡광광도계: Ni 분석용 램프,

## (2) 기기 및 기구

용량플라스크: 1000 ml 1개, 100 ml 1개, 10 ml 4개

피펫: 0.5, 1 ml

마개 달린 원심분리 시험관: 20ml들이

화학저울

초음파세척기 (Ultrasonicator)

와류혼합기

원심분리기

흑연로가 부착된 원자흡광광도계: Ni 분석용 램프,

## (3) 시약

탈이온수

질산

Ni 표준용액 (1000 ppm)

## 라. 시약 조제

### (1) 회석시약 조제

0.1 M 질산용액: 진한 질산(70%, 15.8 M, 비중 1.42) 4.3 mL를 100 mL 용량 플라스크에 취하고 표선을 맞춘다. 사용하는 질산은

반드시 고순도 (원자흡광광도계용 또는 반도체용) 시약을 사용한다.

(2) Ni 표준용액 조제

① Ni 1000ppm 원액 1ml를 100ml 되도록 탈이온수로 희석하여 Ni 10000  $\mu\text{g/L}$  표준용액을 만든다. 이것을 원용액(stock solution)으로 한다.

② Ni 10000  $\mu\text{g/L}$  원용액을 다음과 같이 0.1M 질산 용액으로 희석하여 Ni 10, 30, 60, 100  $\mu\text{g/L}$  표준용액을 만든다.

| 번호 | ppb | Ni 표준용액 농도      |                       | 조제법          |
|----|-----|-----------------|-----------------------|--------------|
|    |     | $\mu\text{g/L}$ | 원용액 ( $\mu\text{l}$ ) |              |
| 1  | 10  | 10              | 100                   | 표선 100ml 되도록 |
| 2  | 20  | 20              | 200                   | 표선 100ml 되도록 |
| 3  | 40  | 40              | 400                   | 표선 100ml 되도록 |
| 4  | 80  | 80              | 800                   | 표선 100ml 되도록 |

마. 시료 및 표준용액 전처리

(1) 검량선 작성용 소변 처리[표준물 첨가법]

Ni 표준용액 0.5 ml, 정상인 소변 0.5 ml를 가하여 잘 섞어 표준물 첨가법에 의한 검량선 작성용 시료로 한다.

표. 표준물 첨가법에 의한 검량선 작성

| 시료번호       | 소변<br>(ml) | Ni 표준용액<br>(용액 번호) (ml) | 소변중 니켈 농도<br>( $\mu\text{g/L}$ ) |
|------------|------------|-------------------------|----------------------------------|
| addition 0 | 0.5        | 0.1M 질산용액               | 0                                |
| addition 1 | 0.5        | 1                       | 0.5                              |
| addition 2 | 0.5        | 2                       | 0.5                              |
| addition 3 | 0.5        | 3                       | 0.5                              |
| addition 4 | 0.5        | 4                       | 0.5                              |

$x$ : 공시료 소변에 기포함되어있는 니켈의 양. 검량선에서  $x$ 절편 값으로부터 구해진다.

## (2) 시료소변 처리

냉동 후 해동한 소변 0.5 cc를 플라스틱 원심분리관에 옮기고 0.5 cc의 1M 질산 용액을 가한 후 뚜껑을 닫고 3000 rpm에서 20 분간 원심분리한다. 니켈의 경우 원심분리시 침전에 일부가 흡착되어(pH 1에서는 1%, pH 6에서는 5%)시료 손실이 있을 수 있으나 원심분리하여 침전을 제거하고 분석하는 것이 분석의 정밀도를 좋게하는데 도움이 된다. 상등액을 원자흡광광도계 자동주입기 용 컵에 옮겨 이 용액 15  $\mu\text{l}$  취하여 원자흡광광도계의 흑연로에 도입한다.

## 바. 기기조건

분석파장은 232.0 nm, 램프 전류는 5 mA, 슬릿 나비는 0.5 nm, 슬릿 높이는 보통(Normal)이며, 중수소(D<sub>2</sub>) 램프 또는 지만

(Zeeman) 바탕보정을 한다. 자동시료주입기 또는 수동으로 15 - 25  $\mu\ell$ 의 시료를 흑연튜브에 주입한다.

(1) 방법(Method) 모드 선택

기기모드(*Instrument mode*): 흡수도(*Absorbance*)

검량선작성모드(*Calibration mode*): 표준물첨가법  
(*Standard addition*)

측정모드(*Measurement mode*): 피이크 높이(*Peak height*)

(2) 기기 파라미터(*Instrument parameters*)

램프전류(*Lamp current*): 5.0mA

슬릿너비(*Slit width*): 0.5nm

슬릿높이(*Slit height*): 보통(*Normal*)

파장(*Wavelength*): 232.0 nm

시료주입(*Sample introduction*): 시료사전혼합모드  
(*Sampler premixed*)

바탕보정(*Background correction*): ON

(3) 주입부 파라미터(*Sampler parameter*)

시료주입량(*Sample volume*): 15  $\mu\ell$

(4) 바탕 보정

중수소(D<sub>2</sub>) 램프 또는 지만(Zeeman) 바탕보정을 하고 매질변형시약으로 기기영점(*Instrument zero*)을 잡고 측정한다.

(5) 흑연로 조건

흑연로 조건은 표와 같다. 이 조건은 사용하고 있는 기기의 사용설명서를 참고하여 최적 조건을 찾아야 한다.

표. 소변중 니켈 분석을 위한 원자흡광광도계 흑연로 조건

| 처리과정   | 온도(℃) | 시간(sec) | 아르곤 가스유속<br>(ml/min) |
|--------|-------|---------|----------------------|
| 건조1    | 95    | 40      | 3                    |
| 건조2    | 120   | 10      | 3                    |
| 회화     | 800   | 10      | 3                    |
| 원자화    | 2400  | 3       | 0                    |
| 튜브 열세척 | 2600  | 3       | 3                    |

#### 사. 정도관리

##### (1) 정밀도(Precision)

2 - 32  $\mu\text{g/L}$  농도 수준에서 상대표준편차 1.5 - 4.7 %임.

##### (2) 정확도(Accuracy)

20  $\mu\text{g/L}$  농도 수준에서 회수율  $99 \pm 5\%$

##### (3) 검출한계

0.5  $\mu\text{g/L}$

#### 아. 참고문헌

- (1) Analytical methods for graphite tube atomizer, ed. E. Rothert, Varian Techtron Pty., 1988
- (2) The THGA Graphite Furnace: Techniques and recommended conditions, Perkin Elmer Cor., 1995
- (3) Biological monitoring of chemical exposure in the workplace, World Health Organization, Contribution to the International Programme on Chemical Safety, 1996

## 2) 소변중 니켈(불꽃 AAS법)

### 가. 분석원리

소변중 니켈을 유기용제로 추출하여 불꽃 AAS법으로 분석한다. 전처리 방법은 소변을 묽은 질산용액으로 희석한 용액을 흑연로에 주입하여 분석한다.

### 나. 시료의 채취

소변 중 니켈은 최근의 니켈의 흡수량을 반영한다. 따라서 소변은 당일 작업 종료 후 채취한다. 시료 채취시 오염되지 않도록 주의한다. 손을 씻은 후 채취하도록 하며 채취 직후 반드시 뚜껑을 닫도록 한다.

### 다. 기구 및 시약

#### (1) 기구세척 및 시약 준비

사용하는 모든 초자기구는 20% 질산에 4시간 이상 담가두었다가 탈이온수로 7회 행구어 사용한다. 탈이온수는 초순수제조장치로 제조한 비저항 18 MΩ의 것을 사용하거나 원자흡광광도계용 탈이온수를 구입하여 사용하며, 1000 ppm Ni 표준용액과 질산 등은 특급시약을 사용한다.

#### (3) 시약

탈이온수



디이소프로필케톤(DIPK, Diisopropyl ketone)  
 헥사메틸렌 암모늄/헥사메틸렌 디티오카바미데이트  
 (HMA/HMDC, hexamethylene  
 ammonium/hexamethylene dithiocarbamate)  
 크실렌  
 질산  
 Ni 표준용액 (1000 ppm)

#### 라. 시약 조제

##### (1) 추출시약 조제: 0.05M HMA/HMDC 용액

50 mL 용량 플라스크에 0.68 g HMA/HMDC를 취하고 15 mL 크실렌을 가하여 녹인 후, 다시 DIPK 약 15 mL를 가하여 잘 흔들여 녹인다. 완전히 용해 시킨 후 DIPK를 가하여 50 mL의 표선을 맞춘다.

##### (2) Ni 표준용액 조제

① Ni 1000ppm 원액 1mL를 100mL 되도록 탈이온수로 희석하여 Ni 10000  $\mu\text{g/L}$  표준용액을 만든다. 이것을 원용액(stock solution)으로 한다.

② Ni 10000  $\mu\text{g/L}$  원용액을 다음과 같이 탈이온수로 희석하여 Ni 10, 20, 40, 80  $\mu\text{g/L}$  표준용액을 만든다.

| 번호 | Ni 표준용액 농도 |                 | 조제법                   |              |
|----|------------|-----------------|-----------------------|--------------|
|    | ppb        | $\mu\text{g/L}$ | 원용액 ( $\mu\text{l}$ ) | 탈이온수         |
| 1  | 10         | 10              | 100                   | 표선 100mL 되도록 |

|   |    |    |     |              |
|---|----|----|-----|--------------|
| 2 | 20 | 20 | 200 | 표선 100ml 되도록 |
| 3 | 40 | 40 | 400 | 표선 100ml 되도록 |
| 4 | 80 | 80 | 800 | 표선 100ml 되도록 |

---

#### 마. 시료 및 표준용액 전처리

##### (1) 검량선 작성용 표준용액의 전처리

각 표준용액 20 cc를 플라스틱 원심분리관에 넣고 DIPK 추출시약 10 cc를 가하여 5분간 혼합기에서 세게 흔든다. 3000 rpm에서 20분간 원심분리 후 상등액을 취하여 원자흡광광도계용 시료로 한다. 매 분석시 마다 공시료로 DIPK 추출시약을 사용하여 측정한다.

##### (2) 시료의 전처리

냉장 또는 냉동 보관한 시료를 해동 후 20도에서 초음파 세척기에 30분간 넣어 가능한 침전을 재용해 시킨다. 와류 혼합기에서 잘 섞은 후 20 cc를 취하여 플라스틱 원심분리관에 옮긴다. DIPK 추출시약 10cc를 가하여 5분간 혼합기에서 세게 흔든다. 3000 rpm에서 20분간 원심분리 후 상등액을 취하여 원자흡광광도계용 시료로 한다.

#### 바. 기기조건

분석파장은 232.0 nm, 램프 전류는 5 mA, 슬릿 나비는 0.5 nm, 슬릿 높이는 보통(Normal)이며, 중수소(D<sub>2</sub>) 램프 바탕보정을 한다. 산화형 공기-아세틸렌 불꽃(lean, blue)에서 공시료로 원점을

잡고 분석한다.

(1) 방법(Method) 모드 선택

기기모드(*Instrument mode*): 흡수도(*Absorbance*)

검량선작성모드(*Calibration mode*): 농도모드  
(*Concentration*)

측정모드(*Measurement mode*): 피크 높이(*Peak height*)

(2) 기기 파라미터(*Instrument parameters*)

램프전류(*Lamp current*): 5.0mA

슬릿너비(*Slit width*): 0.5nm

슬릿높이(*Slit height*): 보통(*Normal*)

파장(*Wavelength*): 232.0 nm

시료주입(*Sample introduction*): 시료사전혼합모드  
(*Sampler premixed*)

(4) 바탕 보정

중수소(D<sub>2</sub>) 램프로 바탕보정을 하고 DIPK 추출용매를 사용하여 기기영점(*Instrument zero*)을 잡고 측정한다.

바. 정도관리

(1) 정밀도(Precision)

10 - 40 µg/L 농도 수준에서 상대표준편차 2.3 - 9.7 %임.

(2) 정확도(Accuracy)

10 - 40 µg/L 농도 수준에서 회수율 98 - 105 %

- (3) 검출한계  
5.0  $\mu\text{g/L}$

바. 참고문헌

- (1) Analyses of Hazardous substances in biological materials,  
2nd ed. by J. Angerer and K.H. Schaller, VCH Weinheim, 1992
- (2) Biological monitoring of exposure to chemicals - Metals,  
ed. by H. K. Dillon and M.H. Ho, John Wiley & Sons, 1991
- (3) Biological monitoring of chemical exposure in the  
workplace, World Health Organization, Contribution to the  
International Programme on Chemical Safety, 1996

## 7. 비소

### 1) 소변중 비소(환원증기 AAS)

#### 가. 분석원리

휘발성이 커서 불꽃법이나 에너지를 이용한 비불꽃법 등으로 중성원자를 만들기가 부적절한 경우, 적당한 시약을 가하여 화학적인 방법으로 중성원자를 만든다. 비소의 경우 시료용액에 Sodium Borohydride ( $\text{NaBH}_4$ )와 같은 환원제를 가하여 중성상태의 As원자를 만들고 공기를 용액에 불어넣어서 As 원자증기를 광로에 내보내 분석한다. 3가, 5가 비소를 분리 분석하기 위하여 이온교환수지 컬럼을 사용하여 액체 크로마토그래피로 분석하는 방법도 있으나 여기서는 소변중 총비소를 AAS로 정량하는 방법을 소개한다.

#### 나. 시료의 채취

작업 종료후 일회노를 산세척한 용기에 채취한다. 3가와 5가의 분리 분석을 위해서는 3가 비소의 5가로의 산화를 막기위하여 용기내에 공기가 없도록 시료를 가득 채운다. AAS로 총 비소를 정량할 때는 시료양과 무방하다. 시료는 냉장보관시 3주일,  $-20^\circ\text{C}$  이하에서 냉동 보관시 6개월 이상 안정하다.

#### 다. 기구 및 시약

### (1) 기구세척 및 시약 준비

사용하는 모든 초자기구는 20% 질산에 4시간 이상 담가두었다가 탈이온수로 7회 행구어 사용한다. 탈이온수는 초순수제조장치로 제조한 비저항 18 MΩ의 것을 사용하거나 원자흡광광도계용 탈이온수를 구입하여 사용하며, 1000 ppm As 표준용액과 Sodium Borohydride ( $\text{NaBH}_4$ ), 수산화나트륨, 질산 등은 특급시약을 사용한다.

### (2) 기기 및 기구

용량플라스크: 1000 ml 1개, 100 ml 1개, 10 ml 4개

피펫: 0.5, 1 ml

마개 달린 원심분리 시험관: 20ml들이

화학저울

초음파세척기 (Ultrasonicator)

와류혼합기

원심분리기

증기생성 환원기화 장치가 부착된 원자흡광광도계

As 분석용 속빈음극램프

### (3) 시약

탈이온수

질산

염산

수산화나트륨( $\text{NaOH}$ )

요드화 칼륨( $\text{KI}$ )

Sodium Borohydride ( $\text{NaBH}_4$ )

As 표준용액 (1000 ppm)

라. 시약 조제

(1) 환원제(I) 조제: 시료 전처리용, 10% 요드화 칼륨 용액  
요드화 칼륨 10g을 100mL 용량 플라스크에 취하고 탈이온수를  
가하여 녹인다.

(2) 환원제(II) 조제: 중성원자 생성용

① 0.05% 수산화나트륨( $\text{NaOH}$ ) 용액

수산화나트륨( $\text{NaOH}$ ) 125 mg을 250 mL 용량 플라스크에 취  
하고 탈이온수로 표선을 맞춘다.

② 0.5% Sodium Borohydride ( $\text{NaBH}_4$ ) 용액

Sodium Borohydride ( $\text{NaBH}_4$ ) 0.5g을 100 mL용량 플라스크에  
넣고 ①에서 조제한 0.05% 수산화나트륨( $\text{NaOH}$ ) 용액을 가하여  
녹인다.

(2) 이동상 조제: 3% 염산

탈이온수 9할에 32% 염산 1할을 가하여 3% 염산을 조제한다.

(3) As 표준용액 조제

① As 1000ppm 원액 1mL를 100mL 되도록 탈이온수로 희석하  
여 As 10000  $\mu\text{g/L}$  표준용액을 만든다. 이것을 원용액(stock  
solution)으로 한다.

② As 10000  $\mu\text{g/L}$  원용액을 다음과 같이 탈이온수로 희석하

여 As 50, 100, 200, 400  $\mu\text{g/L}$  표준용액을 만든다.

| 번호 | As 표준용액 농도 |                 | 조제법      |               |
|----|------------|-----------------|----------|---------------|
|    | ppb        | $\mu\text{g/L}$ | 원용액 (ml) | 희석용액          |
| 1  | 50         | 50              | 0.5      | 표선 100 ml 되도록 |
| 2  | 100        | 100             | 1.0      | 표선 100 ml 되도록 |
| 3  | 200        | 200             | 2.0      | 표선 100 ml 되도록 |
| 4  | 400        | 400             | 4.0      | 표선 100 ml 되도록 |

#### 마. 시료 및 표준용액 전처리

검량선 작성용 표준시료는 다음의 소변시료 처리과정과 같이 처리한다. 냉동후 해동한 소변은 탈이온수를 가하여 20배 희석한다. 희석한 소변 5 mL를 원자흡광광도계 도입용 바이알에 옮기고 32% 염산과 10% 요드화 칼륨 용액을 가하여 잘 섞은 후 상온에서 1시간 동안 환원시킨다.

#### 바. 기기조건

환원제로 0.05% 수산화 나트륨 용액에 녹인 0.5% Sodium Borohydride ( $\text{NaBH}_4$ ) 용액을, 이동상으로 3% 염산용액을 사용한다. 분석파장은 193.7 nm로, 증기생성 환원기화용 측정 셀을 사용한다. .

#### (1) 방법(Method) 모드 선택



기기모드(*Instrument mode*): 흡수도(*Absorbance*)  
검량선작성모드(*Calibration mode*): 농도모드  
(*Concentration*)  
측정모드(*Measurement mode*): 피크 높이(*Peak height*)

(2) 기기 파라미터(*Instrument parameters*)

램프전류(*Lamp current*): EDL, 8 Watt

슬릿너비(*Slit width*): 0.7nm

슬릿높이(*Slit height*): 보통(*Normal*)

파장(*Wavelength*): 193.7 nm

시료주입(*Sample introduction*): 증기생성 환원기화법  
(*Cold vapor generation*

*method*)

(3) 주입부 파라미터(*Sampler parameter*)

주입셀의 온도(*Cell temperature*): 900 °C

사. 정도관리

(1) 정밀도(*Precision*)

47.2 ug/L에서 133.7 ug/L 농도 수준의 시료에 대한 재현성의 상대표준편차는 3 - 7% 임.

(2) 정확도(*Accuracy*)

47.2 ug/L에서 133.7 ug/L 농도 수준의 시료에 대한 회수율은 88 - 114% 임.

(3) 검출한계

0.2  $\mu\text{g/L}$

아. 참고문헌

(1) The THGA Graphite Furnace: Techniques and recommended conditions, Perkin Elmer Cor., 1995

(2) Determination of Arsenic in Urine using the flow injection technique, W. Fritsch and F. Bunzel, Technical Summary for Atomic Absorption, Perkin Elmer

(3) Biological monitoring of chemical exposure in the workplace, World Health Organization, Contribution to the International Programme on Chemical Safety, 1996

(4) Industrial Chemical Exposure, Guidelines for biological monitoring, ed. by R.R. Lauwerys and P. Hoet, Lewis Publishers, 1993

## 8. 코발트

### 1) 소변중 코발트(비불꽃 AAS법)

#### 가. 분석원리

소변중 코발트는 비불꽃 AAS법으로 분석한다. 전처리 방법은 소변에 묽은 질산에 녹인 1% 트리톤 x-100을 가한 후 원심분리한 상등액을 흑연로에 주입하여 분석한다. 감도를 높이기 위하여 킬레이트화하여 용매추출하는 방법을 사용하기도 하나 여기서는 보다 간단히 할 수 있는 직접 주입법을 소개한다.

#### 나. 시료의 채취

월요일 작업전 채취한 소변 시료는 폭로전 채내 흡수량을 반영하며 월요일 작업 종료 후 채취한 소변 시료는 일일 작업 후 채내 흡수량을 반영한다. 주말 작업 종료후 채취한 시료는 주간 폭로량을 반영한다. 시료 채취 시 오염되지 않도록 작업복에서 평상복으로 갈아입은 후 손을 씻고 채취하도록 하며 채취 직후 반드시 뚜껑을 닫도록 한다.

#### 다. 기구 및 시약

##### (1) 기구세척 및 시약 준비

사용하는 모든 초자기구는 20% 질산에 4시간 이상 담가두었

다가 탈이온수로 7회 행구어 사용한다. 탈이온수는 초순수제조장치로 제조한 비저항 18 MΩ의 것을 사용하거나 원자흡광광도계용 탈이온수를 구입하여 사용하며, 1000 ppm Co 표준용액과 질산 등은 특급시약을 사용한다.

(2) 기기 및 기구

용량플라스크: 1000 ml 1개, 100 ml 1개, 10 ml 4개

피펫: 0.5, 1 ml

마개 달린 원심분리 시험관: 20ml들이

화학저울

초음파세척기 (Ultrasonicator)

와류혼합기

원심분리기

흑연로가 부착된 원자흡광광도계: Co 분석용 속빈음극램프

(3) 시약

탈이온수

질산

Triton X-100

Co 표준용액 (1000 ppm)

라. 시약 조제

(1) 희석시약 조제

1.3 N 질산용액으로 희석한 0.1% Triton X-100용액: 진한 질산(70%, 15.8 M, 비중 1.42) 0.8 mL를 100 mL 용량 플라스크에 취하고 표선을 맞춘다. 사용하는 질산은 반드시 고순도 (원자흡광

광도계용 또는 반도체용) 시약을 사용한다.

(2) Co 표준용액 조제

① Co 1000ppm 원액 1ml를 100ml 되도록 탈이온수로 희석하여 Co 10000  $\mu\text{g/L}$  표준용액을 만든다. 이것을 원용액(stock solution)으로 한다.

② Co 10000  $\mu\text{g/L}$  원용액을 다음과 같이 1.3 N 질산용액으로 희석한 0.1% Triton X-100 희석용액으로 희석하여 Co 10, 50, 100, 200, 400  $\mu\text{g/L}$  표준용액을 만든다.

| 번호 | Co 표준용액 농도 |                 | 조제법                   |             |
|----|------------|-----------------|-----------------------|-------------|
|    | ppb        | $\mu\text{g/L}$ | 원용액 ( $\mu\text{l}$ ) | 희석용액        |
| 1  | 10         | 10              | 10                    | 표선 10ml 되도록 |
| 2  | 50         | 50              | 50                    | 표선 10ml 되도록 |
| 3  | 100        | 100             | 100                   | 표선 10ml 되도록 |
| 4  | 200        | 200             | 200                   | 표선 10ml 되도록 |
| 5  | 400        | 400             | 400                   | 표선 10ml 되도록 |

마. 시료 및 표준용액 전처리

(1) 검량선 작성용 소변 처리[표준물 첨가법]

Co 표준용액 0.1ml, 정상인 소변 1.0ml를 가하여 잘 섞어 표준물 첨가법에 의한 검량선 작성용 시료로 한다.

표. 표준물 첨가법에 의한 검량선 작성

| 번호         | 소변<br>(ml) | Co 표준용액<br>(용액 번호) | 소변중 코발트 농도<br>(ml) | ( $\mu\text{g/L}$ ) |
|------------|------------|--------------------|--------------------|---------------------|
| addition 0 | 1.0        | 0.1M 질산용액          | 0.1                | $x + 0$             |
| addition 1 | 1.0        | 1                  | 0.1                | $x + 1$             |
| addition 2 | 1.0        | 2                  | 0.1                | $x + 5$             |
| addition 3 | 1.0        | 3                  | 0.1                | $x + 10$            |
| addition 4 | 1.0        | 4                  | 0.1                | $x + 20$            |
| addition 5 | 1.0        | 5                  | 0.1                | $x + 40$            |

$x$ : 공시료 소변에 기포함되어있는 코발트의 양. 검량선에서  $x$ 절편값으로부터 구해진다.

## (2) 시료소변 처리

냉동 후 해동한 소변 1.0 mL를 플라스틱 원심분리관에 옮기고 100  $\mu\text{l}$ 의 1.3 N 질산용액으로 희석한 0.1% Triton X-100용액을 가한다. 외부의 오염에 주의하여 반드시 청정실험대에서 처리한다. 뚜껑을 닫고 3000 rpm에서 20분간 원심분리한다. 상등액을 원자흡광광도계용 시료컵에 옮겨 이 용액 15  $\mu\text{l}$  취하여 원자흡광광도계의 흑연로에 도입한다.

## 바. 기기조건

분석파장은 240.7 nm, 램프 전류는 5 mA, 슬릿 나비는 0.5 nm, 슬릿 높이는 보통(Normal)이며, 중수소(D<sub>2</sub>) 램프 또는 지만(Zeeman) 바탕보정을 한다. 자동시료주입기 또는 수동으로 15 -

25  $\mu\text{l}$ 의 시료를 흑연튜브에 주입한다.

(1) 방법(Method) 모드 선택

기기모드(*Instrument mode*): 흡수도(*Absorbance*)

검량선작성모드(*Calibration mode*): 표준물첨가법  
(*Standard addition*)

측정모드(*Measurement mode*): 피크 높이(*Peak height*)

(2) 기기 파라미터(*Instrument parameters*)

램프전류(*Lamp current*): 5.0mA

슬릿너비(*Slit width*): 0.5nm

슬릿높이(*Slit height*): 보통(*Normal*)

파장(*Wavelength*): 240.7 nm

시료주입(*Sample introduction*): 시료사전혼합모드  
(*Sampler premixed*)

바탕보정(*Background correction*): ON

(3) 주입부 파라미터(*Sampler parameter*)

시료주입량(*Sample volume*): 15  $\mu\text{l}$

(4) 바탕 보정

중수소(D<sub>2</sub>) 램프 또는 지만(Zeeman) 바탕보정을 하고 1.3 N 질산용액으로 희석한 0.1% Triton X-100용액으로 기기영점(*Instrument zero*)을 잡고 측정한다.

(5) 흑연로 조건

흑연로 조건은 표와 같다. 이 조건은 사용하고 있는 기기의 사용설명서를 참고하여 최적 조건을 찾아야 한다.

표. 소변중 코발트 분석을 위한 원자흡광광도계 흑연로 조건

| 처리과정   | 온도(℃) | 시간(sec) | 아르곤 가스유속<br>(ml/min) |
|--------|-------|---------|----------------------|
| 건조1    | 95    | 40      | 3                    |
| 건조2    | 120   | 10      | 3                    |
| 회화     | 750   | 8       | 3                    |
| 원자화    | 2300  | 3       | 0                    |
| 튜브 열세척 | 2500  | 2       | 3                    |

#### 사. 정도관리

##### (1) 정밀도(Precision)

11.2  $\mu\text{g/L}$  농도 수준의 10개 시료에 대한 상대표준편차 6.7 % 임.

##### (2) 정확도(Accuracy)

40  $\mu\text{g/L}$  농도 수준의 실험실적 첨부시료에 대한 회수율  $101 \pm 5\%$

##### (3) 검출한계

0.1 - 0.3  $\mu\text{g/L}$



아. 참고문헌

- (1) Analytical methods for graphite tube atomizer, ed. E. Rothert, Varian Techtron Pty., 1988
- (2) The THGA Graphite Furnace: Techniques and recommended conditions, Perkin Elmer Cor., 1995
- (3) Biological monitoring of chemical exposure in the workplace, World Health Organization, Contribution to the International Programme on Chemical Safety, 1996
- (4) Biological monitoring of exposure to chemicals: Metals, ed. by H. K. Dillon and M.H. Ho, John Wiley & Sons, 1991

## 유 기 분 석

### 1. 톨루엔

1) 전혈중 톨루엔(GC법)

2) 요중 마노산(UV법)

3) 요중마노산, 만델린산, 페닐글리옥실산, 메틸마노산(HPLC법)

4) 요중 o-, m-, p-크레졸(GC법)

5) 요중마노산, 만델린산, 페닐글리옥실산, 메틸마노산(GC법)

#### 가. 분석 원리

요중 유기산을 분석하는데는 액체크로마토그래피가 가장 권장하는 방법이나 액체크로마토그래피를 보유하지 않은 경우, UV법으로는 여러 종류의 유기산이 혼재하는 시료중의 마노산을 정확하게 분석할 수 없으므로 가스크로마토그래피법을 제안한다. 그러나 소변중의 유기산은 휘발성이 없으므로 추출하여 휘발성 유도체를 붙여야하는 번거로움이 있다. 유도체화 시약으로 발암성 물질인 디아조메탄을 쓰는 문헌이 제시되어 있으나 여기서는 메탄올을 사용하였다.

해리를 억제시키는 산성조건에서 유기산을 유기용제로 추출한

후 강산성조건하에서 메탄올로 유기산기를 메틸화하여 휘발성기를 부여하여 가스크로마토그래피로 분리정량한다.

#### 나. 시료의 채취

- (1) 작업이 끝난 후 소변을 채취한다.(작업후 시료)
- (2) 작업후반 4시간동안의 소변을 채취한다.(작업후반 4시간 시료)

#### 다. 기기 및 기구

용량플라스크 100ml 1개, 10ml 4개

자동피펫 1000 $\mu$ l

마개달린 시험관 10ml

#### 라. 시약

마노산

헵타데카노인산(Heptadecanoic acid)

하이드로신나민산(Hydrocinnamic acid)

염산

황산나트륨

에틸아세테이트

클로로포름

증류수

#### 마. 시약 조제

(1) 표준용액 조제

① 마노산 300mg을 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 마노산 3000ppm의 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다.

② 표준용액 원액을 1, 3, 5, 7, 9ml 취하여 10ml 용량플라스크에서 희석하여 마노산 300, 900, 1500, 2100, 2700ppm의 검량선용 표준용액을 제조한다.

③ Heptadecanoic acid, hydrocinnamic acid 각각 10mg을 10ml 메탄올에 녹여 1 g/L의 내부표준용액을 만든다.

(2) 유도체화 시약 조제

진한 염산 5ml와 황산나트륨 10mg을 100ml의 메탄올에 녹여 GC용 유도체화시약을 만든다.

바. 시료 및 표준용액 전처리

① 소변시료 또는 표준용액 1ml에 내부표준물질 200μl를 첨가한다.

② 여기에 0.5N 염산용액 200μl와 2ml의 에틸아세테이트를 첨가한 다음 20분 흔들어 주고 1500rpm으로 4분간 원심분리하여 유기층을 추출한다.

③ 잔사에 유도체화시약 1ml를 넣고 마개를 한 후 60℃에서 40분 반응시킨다. 반응액을 상온으로 냉각시킨 후 증류수 2ml와 클로로포름 1ml를 첨가하고 20분간 잘 흔들어 준 후 1500rpm에서 4분 원심분리하고 클로로포름층을 추출하여 GC용 검액으로 한다.

#### 사. 기기(GC)조건

(1) 컬럼 HP-5 30m x 0.32mm ID x 0.3 $\mu$ m film thickness

(2) 온도

① 주입부 250℃

② 검출기 250℃

③ 컬럼 100℃(1분) - (20℃/분) - 240℃(6분)

(3) 유속: 전유속 (Total flow rate) 100ml/min

(4) 시료분할비(Split ratio)

50 : 1

(5) 검출기의 종류

불꽃이온화 검출기(Flame Ionization Detector: FID)

#### 사. 정도관리

(1) 정밀도(Precision)

0.5 - 50 mg/L농도 범위에서 상대표준편차 5 %임.

(2) 정확도(Accuracy)

회수율 98 - 101%

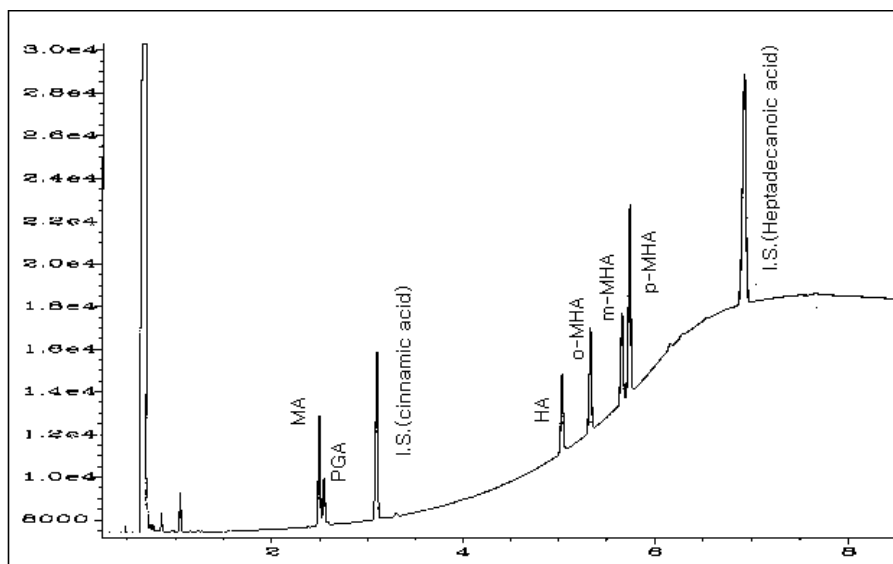
(3) 실험실간 외부정도관리 프로그램 및 표준시료

산업안전보건연구원 특수건강진단기관 분석정도관리 프로그램 유기분석분야.

(4) 검출한계  
0.5 mg/L

아. 크로마토그램의 해석

주어진 조건에서 약 8분 내외에 마노산의 피크가 나타난다.  
내부표준물질의 면적에 대한 마노산 피크의 상대적 비로서 산출  
한다.



차. 참고문헌

(1) WHO/HPR/OCH, Biological monitoring of chemical exposure in the workplace; Toluene, p.205

(2) D. Carvalho, V.L. Lanchote, P.S. Bonato, R. Queiroz, A.C. Santos, and S. Dreossi, A new derivatization procedure for the analysis of hippuric acid and m-methyl-hippuric acid by gas chromatography, Int. Arch. Occp. Environ. Health, vol63, 33-37, 1991

(3) 조수현, 임용현, 김선민, 권호장, 하미나, 한상환, 가스크로마토그래피를 이용한 요중 마뇨산 측정시 새로운 시료 전처리 방법의 검증, 대한 산업의학회지, 7권 1호, 58-62

#### 4. 벤젠

##### 3) 요중 S-phenylmercapturic acid

###### 가. 분석원리

산성화된 소변에 내부표준물질을 넣고 유기용제로 S-phenylmercapturic acid를 추출한 뒤 휘발성 유도체화하여 가스크로마토그래피-질량분석기로 분석한다.

###### 나. 시료의 채취

작업이 끝난 후 소변을 채취한다.(작업후 시료)

###### 다. 기기 및 기구

자석교반기

분액깔대기(250mL)

회전증발기(Rotary evaporator)

원심분리기

용량플라스크 100mL 1개, 10mL 4개

자동피펫 1000 $\mu$ L

마개달린 시험관 10mL

가스크로마토그래피 - 질량분석검출기

###### 라. 시약

염산

에틸아세테이트



디아조메탄

디에틸에테르

증류수

페닐머캅토산(S-Phenylmercapturic acid)

파라플로로 페닐머캅토산(p-fluoro-S-phenylmercapturic acid)

#### 마. 시약 조제

##### (1) 표준용액 조제

페닐머캅토산(S-Phenylmercapturic acid) 약 10 mg을 정밀하게 달아 1L 용량 플라스크에 넣고 10 mL의 2M 염산 용액을 가하여 용해시킨다. 증류수로 표선을 채워 10 mg/L용액을 만든다. 이것을 표준원용액으로 한다. 다음 표와 같이 표준원용액을 희석하여 검량선 작성용 표준시료를 조제한다.

| 번호 | 표준용액 농도 |                 | 조제법      |              |
|----|---------|-----------------|----------|--------------|
|    | ppb     | $\mu\text{g/L}$ | 원용액 (mL) | 탈이온수         |
| 1  | 10      | 10              | 0.1      | 표선 100ml 되도록 |
| 2  | 50      | 50              | 0.5      | 표선 100ml 되도록 |
| 3  | 100     | 100             | 1.0      | 표선 100ml 되도록 |
| 4  | 500     | 500             | 5.0      | 표선 100ml 되도록 |
| 5  | 1000    | 1000            | 10.0     | 표선 100ml 되도록 |

## (2) 내부 표준용액 제조

파라플로로 페닐머캡토산(p-fluoro-S-phenylmercapturic acid) 약 10 mg을 정밀하게 달아 1L 용량 플라스크에 넣고 10 mL의 2M 염산 용액을 가하여 용해시킨다. 증류수로 표선을 채워 10 mg/L용액을 만든다. 이것을 내부 표준용액으로 한다.

## 바. 시료 및 표준용액 전처리

① 소변시료는 채취후 진한 염산을 1 mL/100 mL 의 농도가 되게 가하여 소변의 pH가 2이하가 되도록 한다.

② 10 mL의 소변에 1 mL의 내부표준물질 용액을 가한 후 용액을 250 mL용량의 분액깔대기에 옮겨 25 mL의 에틸아세테이트를 첨가한 다음 20분 흔들여 주고 1500rpm으로 4분간 원심분리하여 유기층을 추출한다.

③ 추출한 유기층은 회전증발기(rotary evaporator)에서 40도로 가온하며 유기용매를 증발, 건조시킨다. 잔사를 메탄올 0.5 mL를 2회 사용하여 녹인후 10mL용량의 마개달린 시험관에 옮긴다.

④ 3 mL의 디아조메탄/에테르 용액을 가하여 상온에서 1시간 가량 메틸화 시킨다.

⑤ 반응이 끝난 용액의 상등액을 가스크로마토그래피에 주입한다.

⑥ 소변 대신 공시료 및 표준시료에 대하여 소변시료와 마찬가지로 위와 같이 처리한다.

## 사. 기기(GC)조건

(1) 컬럼 Carbowax 20M 30m x 0.32mm ID x 0.3μm film

thickness

(2) 온도

- |         |                               |
|---------|-------------------------------|
| ① 주입부   | 250℃                          |
| ② 검출기   | 250℃                          |
| ③ 컬럼    | 90℃(5분) - (12℃/분) - 230℃(10분) |
| ④ 인터페이스 | 250℃                          |

(3) 유속: 전유속 (Total flow rate) 100 ml/min

(4) 비분할주입 모드(Splitless)

Splitless time: 2분

(5) 시료 주입량: 1 uL

(6) 질량분석 검출기

이온화 타입: 전자충돌 이온화(Electron Impact)

이온화 에너지: 70 eV

아. 정도관리

(1) 정밀도(Precision)

7 - 100 ug/L농도 범위에서 상대표준편차 8 - 10.1 %임.

(2) 정확도(Accuracy)

15 ug/L의 농도 범위에서 10개의 시료에 대한 평균 회수율 79%, 100 ug/L의 농도 범위에서 평균 회수율 84%

(3) 실험실간 외부정도관리 프로그램 및 표준시료

산업안전보건연구원 특수건강진단기관 분석정도관리 프로그램  
유기분석분야.

(4) 검출한계

1 ug/L

차. 참고문헌

(1) N.J. Sitter, P.J.Boogaard, and G.D.Beulink, Application of the urinary S-phenylmercapturic acid test as a biomarker for low levels of exposure to benzene in industry, Brit. J. Ind. Med. 1993, 50, 460 - 469

(2) Biological monitoring of chemical exposure in the workplace, World Health Organization, Contribution to the International Programme on Chemical Safety, 1996

(3) Working Group Analytical Chemistry, edited by J. Angerer and K.H. Schaller, Analyses of Hazardous substances in biological materials, vol5, p143-162, 1997.

## 5. Trichloroethylene

### 3) 요중 총삼염화물(UV법)

#### 가. 분석원리

트리클로로에틸렌은 대사되어 결합형(conjugated) 트리클로로에탄올과 트리클로로 초산으로 대사된다. 요중 총 삼염화물은 결합형(conjugated) 트리클로로에탄올과 트리클로로초산의 총량으로 산출한다. 결합형 트리클로로에탄올을 유리상태로 만든 뒤 산화제를 사용하여 트리클로로초산으로 만든 뒤, 트리클로로초산이 강알칼리성에서 피리딘과 결합하여 적색을 띠는 성질을 이용하여 총 삼염화물을 정량한다. 결합형(conjugated) 트리클로로에탄올을 그냥 놔두고 알칼리성 피리딘 시약을 사용하면 트리클로로초산만 반응하게 되므로 요중 트리클로로초산의 양을 정량할 수 있다.

#### 나. 시료채취

트리클로로에틸렌은 체내에 축적되므로 주말 작업 종료 후 또는 2, 3일간 작업 후 채취한 시료와 주초 작업 전 채취한 시료의 값을 비교한다.

#### 다. 기구 및 기기

수조

자석교반기

용량플라스크 100ml 1개, 50ml 5개, 10ml 4개

자동피펫 1000 $\mu$ l

마개달린 시험관 10ml

반응시험관 20ml

가스크로마토그래피 - 질량분석검출기  
분광광도계

라. 시약

삼산화크롬  
수산화칼륨  
피리딘  
질산  
증류수  
톨루엔

마. 시약 조제

(1) 산화제: 8g의 삼산화크롬을 5 mL의 물과 15 mL의 진한 질산에 녹인다.

(2) 7.8 M 수산화칼륨용액: 수산화칼륨은 흡습성이 있으므로 가능한 재빨리 평량하여 물에 녹인다. 43.76 g의 수산화나트륨을 100 mL에 녹인다.

(3) 피리딘: 피리딘은 개봉 후 오래된 것은 맹검치를 높이므로 가능한 새것을 쓴다.

바. 시료 및 표준용액 전처리

(1) 표준용액의 조제

트리클로로아세트산 약 50 mg을 정밀하게 달아 100 mL 용량 플라스크에 넣고 증류수로 표선을 채워 500 mg/L용액을 만든다. 이것을 표준원용액으로 한다. 다음 표와 같이 표준원용액을 희석하여 검량선 작성용 표준시료를 조제한다.

| 번호 | 표준용액 농도 |          | 조제법<br>증류수  |
|----|---------|----------|-------------|
|    | mg/L    | 원용액 (mL) |             |
| 1  | 5       | 0.5      | 표선 50mℓ 되도록 |
| 2  | 10      | 1.0      | 표선 50mℓ 되도록 |
| 3  | 20      | 2.0      | 표선 50mℓ 되도록 |
| 4  | 40      | 4.0      | 표선 50mℓ 되도록 |
| 5  | 50      | 5.0      | 표선 50mℓ 되도록 |

(2) 시료의 처리

① 1 mL의 소변을 취하여 산화제 1 mL를 가하고 10분간 끓는 물에 가열하여 결합형 트리클로로에탄올을 유리시킨다.

② 시료를 20mL 반응플라스크에 옮겨 7.8 M 수산화칼륨용액 2.5 mL를 가하고 5mL의 피리딘과 0.5 mL의 톨루엔을 가한 다음 내용물을 세게 혼합한다.

③ 65도의 수조에 반응 플라스크를 넣고 50분간 가온한다.

④ 반응플라스크를 상온에서 식힌 후 3.0 mL의 피리딘층을 취하고 0.6 mL의 증류수를 가해 잘 섞는다.

⑤ 반드시 소변 대신 증류수를 사용하여 반응 공검액을 만들어 비교한다.

사. 기기조건

피리딘 층을 분리한 후 20분 이내에 프라스틱 성분이 함유되지 않은 10 mm Cuvettes를 사용하여 530 nm에서 표준물질과의 상대적인 피크 비로서 측정한다. 반응 공검액에 의한 흡수치를 감

하여 준다.

아. 정도관리

(1) 정밀도(Precision)

25.0 - 30.4 mg/L의 농도 범위에서 상대표준편차 1 - 4.1 %임.

(2) 정확도(Accuracy)

3.0 -58.1 mg/L의 농도 범위에서 회수율 92 - 96%임.

(3) 검출한계

3.0 mg/L

차. 참고문헌

(1) S. Tanaka ad M. Ikeda, Determination of trichloroethanol and trichloroacetic acid in the urine. Brit. J. Industr. Med. 25, 214-219 (1968)

(2) Working Group Analytical Chemistry, edited by J. Angerer and K.H. Schaller, Analyses of Hazardous substances in biological materials, voll, p.211, 1992



#### 4) 요중 삼염화초산(UV법)

요중 총삼염화물의 분석 방법과 동일하나 결합형 트리클로로에탄올을 유리형으로 만드는 과정을 생략한다. 즉, 산화제를 가하는 과정을 생략하고 바로 시료에 알칼리성 피리딘 용액을 가하면 시료중 유리형 트리클로로아세트산만 검출할 수 있다.

## 9. 디메틸아세트아마이드

### 1) 요충 N-methylacetamide(NMAC)

#### 가. 분석 원리

N,N-디메틸아세트아미드의 대사물인 N-methyl-N-hydroxymethylacetamide 및 N-methylacetamide는 고온의 가스 크로마토그래피 조건에서 N-methylacetamide로서 검출된다. 소변을 농축시킨 후 메탄올에 용해 시킨 액을 원심분리하여 침전을 제거하고 상등액을 가스크로마토그래피에서 분석한다.

#### 나. 시료채취

작업이 끝난 직 후의 소변을 채취한다.

#### 다. 기구 및 시약

용량플라스크 100ml 1개, 25ml 1개, 10ml 3개  
자동피펫 2.5ml, 100 $\mu$ l  
시험관 10ml 시료수 + 5개  
원심분리 시험관 1 mL  
진공냉동원심분리기  
N-methylacetamide  
탈이온수  
메탄올

#### 라. 표준용액 조제 및 시료의 전처리

##### (1) 검량선 용 표준용액의 조제

① N-methylacetamide 100 $\mu$ l(101.1mg)을 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 1011ppm 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다.

② 표준용액 원액 1ml를 25ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 40.4ppm의 농도로 만든다. 이를 다시 10ml 용량플라스크에서 메탄올로 희석하여 10.1, 20.2, 30.3ppm의 표준용액을 만들어 검량선 용 표준용액으로 한다.

## (2) 시료의 전처리

① 소변을 3분간 잘 섞어준 후 0.5ml를 취하여 시험관에 옮긴다.

② 진공냉동원심분리기에서 3000rpm으로 회전하며 건고시킨다.

③ 메탄올 1ml를 가하고 잘 섞은 후 3000rpm에서 5분 원심분리하여 침전을 제거한다.

④ 상등액을 취하여 GC 검액으로 한다.

## 마. 기기조건: 가스크로마토그래피 조건

(1) 컬럼 Carbowax-20 30m x 0.32mm ID x 0.3 $\mu$ m film thickness

### (2) 온도

- Injector 200 $^{\circ}$ C
- Detector(FID) 230 $^{\circ}$ C
- Oven 40 $^{\circ}$ C(2분) - (20 $^{\circ}$ C/분) - 180 $^{\circ}$ C(2분)

(3) Flow : Total 100ml/min

(4) Split ratio 50:1

바. 정도관리

(1) 정밀도(Precision)

35.0 mg/L의 농도에서 10회 측정시의 상대표준편차 2.2 %  
임.

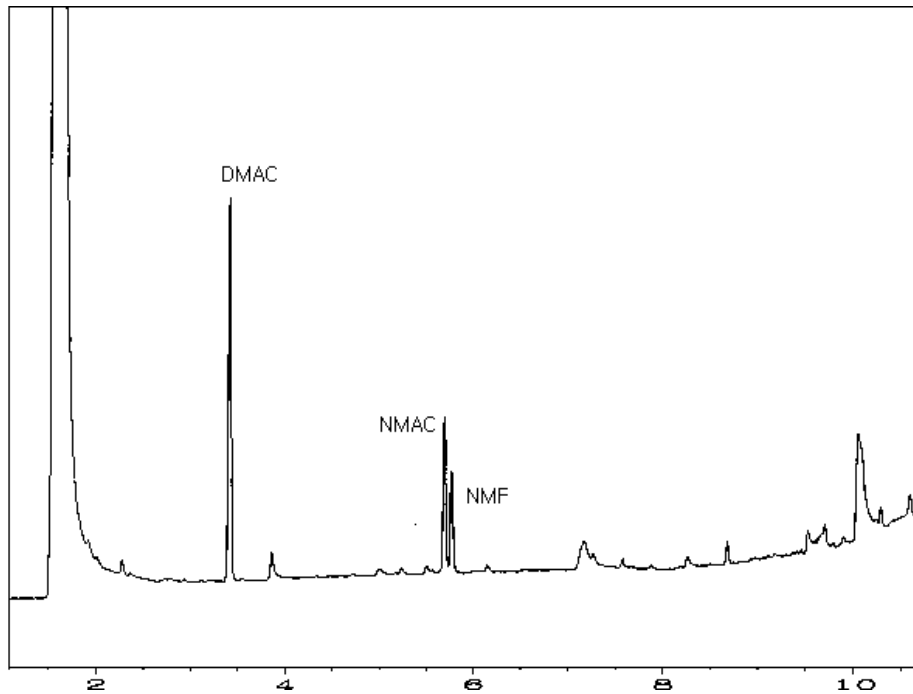
(2) 정확도(Accuracy)

35.0 mg/L의 농도에서 회수율 106%임.

(3) 검출한계

0.1 mg/L

사. 분석 결과 예시



아. 참고문헌

(1) M.E. Maxfield, J.R. Barnes and H.T. Trochimowics, Urinary excretion of metabolite following experimental human exposure to DMF or to DMAC, Journal of Occup Med., 17(8), 506-511, 1975

(2) P.Borm, L. Jong and A. Vilegen, Environmental and biological monitoring of workers occupationally exposed to dimethylacetamide, J. Occup Med, 29(1), 899-903, 1987

(3) G. Spies, R. Rhyne and J. Oglesby, Acrylic fiber workers for liver toxicity and exposure to dimethylacetamide 1. Assessing exposure to dimethylacetamide by air and biological monitoring, J. Occup. Environ. Med, 37(9), 1093-1101, 1995