

연구자료

직진연 97-14-26

건강진단 기준상 유해물질 분석법의 표준화에 관한 연구(I)

Analytical Methods of Biological Determinants
for Biological Monitoring(I)

1997



한국산업안전공단
산업보건연구원

제 출 문

한국산업안전공단 이사장 귀하

본 연구를 1997년도 산업보건연구원의 연구사업중 “건강진단 기준상 유해물질 분석법의 표준화에 관한 연구 (I)”에 대한 최종 결과 보고서로 제출합니다.

1997년 12월 31일

제출자 : 산업보건연구원장 문 영 한

연구책임자 : 책임연구원 양 정 선

공동연구자 : 수석연구원 강 성 규

선임연구원 이 미 영

연구원 박 인 정

목 차

머리말	1
I. 서론 - 생물학적 모니터링	3
1. 노출량 평가	3
2. 영향, 감수성 평가	5
3. 약물동력학적 요인	6
4. 생물학적 모니터링 수행의 필요 조건	8
1) 적절한 생체시료의 가용성	8
2) 신뢰성 있는 분석법의 확립과 정도관리	11
3) 적절한 지표물질의 선택	12
4) 해석에 필요한 정상치와 기준치	12
참고문헌	14
 II. 무기분석 이론 -원자흡수분광광도법	 17
1. 원리 및 이론	17
1) 원자흡수, 원자 형광 및 발광	17
2) 원자흡수 스펙트럼과 Beer-Lambert법칙	18
2. 기기	19
1) 광원	20
2) 원자화 장치	21
3) 불꽃법	22
4) 비불꽃법	23
3. 방해영향	25
1) 화학적 방해	25
2) Ionization	26
3) 분광학적 방해	26
4) 매트릭스 효과	28
4. 응용	28
1) 표준곡선법	29
2) 표준물 첨가법	29

3) 감도 및 검출한계	30
4) 장단점	30
참고문헌	32

III. 무기분석 각론	34
1. 납	34
1) 전혈중 납	36
2) 소변중 납	38
3) 혈장중 delta-aminolevulinic acid (delta-ALA)	39
4) 혈중 P-5-N(pyrimidine 5' nucleotidase) activity	45
2. 카드뮴	45
1) 전혈중 카드뮴	46
2) 소변중 카드뮴	48
3. 크롬	51
1) 혈청중 크롬	52
2) 소변중 크롬	54
4. 망간	56
1) 전혈중 망간	57
2) 소변중 망간	59
5. 수은	61
1) 소변중 수은	62
2) 전혈중 수은	63
참고문헌	65

IV. 유기분석 이론 - 크로마토그래피	74
1. 기초원리 및 이론	74
1) 크로마토그래피의 분류 및 분리 메카니즘	75
2) 크로마토그램의 해석	76
3) 이동상	87
4) 칼럼 및 정지상	90

2. 기기	97
1) GC의 기기	97
2) LC의 기기	109
3. 응용	110
1) 정성 및 정량분석	111
2) GC의 응용	114
3) Headspace GC의 응용	116
4) LC의 응용	117
참고문헌	121

V. 유기분석(Organic Analysis) 각론	123
1. 톨루엔	123
1) 혈중톨루엔	123
2) 요중마뇨산(HPLC법)	126
3) 요중마뇨산(UV법)	128
4) 요중o-,m-,p-크레졸	130
2. 스티렌	132
1) 혈중스티렌	132
2) 요중만델린산,페닐글리옥실산	135
3. 크실렌	137
1) 혈중크실렌	137
2) 요중메틸마뇨산	140
4. 벤젠	142
1) 요중 t,t-muconic acid	142
2) 요중페놀	145
5. Trichloroethylene	147
1) 혈중삼염화에탄올	147
2) 요중총3염화물	150
6. 알콜,케톤류	153
1) 요중메틸알코올, 에틸알코올, 이소프로필알코올, 아세톤,	

메틸에틸케톤, 메틸이소부틸케톤	153
7. 헥산	156
1) 요중2,5-hexanedione	156
8. 디메틸포름아미드	159
1) 요중N-methylformamide(NMF)	159
참고문헌	161
 부록. 항목별 분석법 요약	 175

머 리 말

이 연구는 생물학적 모니터링을 위한 생체시료중의 유해물질 자체나 유해물질의 대사산물, 생화학적 변이산물등의 생체자표물질의 분석법에 관한 연구보고입니다. 노동부 고시에는 43가지 항목에 대한 “요및 혈중 신진대사물질과 유해물질 검사”에 대한 검사방법, 관리한계 등이 제시되어 있습니다. 그러나 그 중에는 아직 분석법이 확립되어 있지 않아 실제로 적용할 수 없는 항목들도 있고, 제시된 관리한계등의 이론적 근거가 부족한 항목들도 있습니다. 그러므로 여기서는 “건강진단 기준상 유해물질 분석법의 표준화에 관한 연구 (I)”이라는 제목에도 불구하고, 고시상의 43가지 항목에 구애받지 않고, 일반적으로 우리나라 실험실에서 자주 행해지고 보다 중요하다고 생각되는 생물학적 모니터링 관련 항목의 분석법에 대해서 우선 정리했습니다.

이 보고서(I)에 실린 분석법들은 대부분 다른 연구자들이 보고한 논문을 기초로 우리 실험실에서 실제 실험해 보고 수정, 보완하여 우리나라의 다른 실험실 실정에 맞게 고친 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. 논문에 제시되어 있지만, 신뢰성 있는 데이터를 내기 위한 조건이 확립되지 않은 항목들, 기타 작업환경 시료 등 다른 분야의 항목들은 제외하였습니다. 자세한 원문을 보고자 하는 사람을 위하여 해당하는 참고 문헌들의 목록을 실었습니다. 한 항목에 대하여 여러 가지 분석법이 제시되어 있는 경우는 가장 간단하고 경제적이며, 데이터의 신뢰성이 높은 방법을 택하였고 그 외의 방법들은 참고 문헌을 제시했습니다. 보고서(I)에 빠져 있는 생물학적 모니터링 관련 항목들에 대해서는 추가 실험이 계속되는대로 보고서(II) 및 (III)을 통하여 정리하고자 합니다.

서론에서는 생물학적 모니터링에 관한 기본적인 개념으로 폭로량 평가, 영향 및 감수성 평가 면에서 본 생물학적 모니터링의 활용성과 적절한 수행의 필요요건 등에 관한 외국의 최근 논문들을 검색하였습니다.

본론은 무기분석(Inorganic analyses)와 유기분석(Organic analyses) 분야로 나뉘어져 있습니다. 분석법 각론에 들어가기에 앞서, 분석기기들의 원리와 응용에 필요한 지식들을 소개하였습니다. 최근의 분석장비들은 전자동 시스템으로 되어 있어, 분석장비의 기본적인 원리를 잘 이해하고 있지 않은 상태에서 이러한 기기들을 사용하다 보면 문제가 발생했거나 약간의 응용이 필요한 경우 전혀 손을 쓰

지 못하는 경우도 생기게 됩니다. 산업보건관련 분석업무에 종사하고 있는 사람들의 학문적 배경이 다양하므로, 자기가 사용하고 있는 분석기기의 기본적인 원리나 응용에 대해서 명확히 알고 있을 필요가 있어, 분석화학의 교과서에 나오는 기본적인 원리 부분의 원문을 좀 자세히 실었습니다. 지루하더라도 한 번 차분히 읽어보면 도움이 되리라 생각됩니다. 분석장비의 구성이나 내부 구조등은 보유하고 있는 장비의 매뉴얼을 참고하는 것이 좋습니다.

부록에서는 분석자가 실험실에서 실험할 때 휴대하고 참고하기 편리하도록 각 항목별 분석법을 낱장으로 간단히 정리했습니다. 항목별 검출한계 산출 과정과 검량선 또는 크로마토그램을 예시하여 실험자가 참고하도록 하였습니다.

이 보고서는 산업보건 관련 분석 실험실에 종사하는 실무자들을 돕기위해서 만들어진 것이지만, 생물학적 모니터링을 잘 이해하고 싶은 다른 분야의 전문가들에게도 참고가 될 수 있으리라고 생각합니다. 이 보고서가 산업보건 관련 실험실 현장에서 참고 자료 부족으로 어려움을 겪고 있는 분석 실무자들에게 실질적인 도움이 되었으면 합니다.

1997. 12. 20. 양 정선

I. 서 론

생물학적 모니터링은 1) 노출량 평가(exposure), 2) 영향 평가(effect), 3) 감수성 평가(susceptibility)의 세가지로 분류된다. 생물학적 모니터링은 생체시료중에 함유된 유해물질이나 그 대사산물등을 분석하여 오염의 정도를 평가하는 것을 말하는 것으로, 작업환경 모니터링 즉, 작업환경 중의 유해물질 농도를 분석하여 오염의 정도를 평가하는 것에 대응한 단어이다. 본디 생물학적 모니터링은 노출량 평가에서 출발하였으나 최근 유해물질의 인간에 대한 초기의 영향을 측정하고 폭로의 정도, 건강 위험도를 평가하여 예방에 도움이 되도록 하는 것도 영향 평가로서 생물학적 모니터링의 범주 안에 추가하게 되었다. 여기에 유해물질 폭로에 대해서 개개인의 선천적 또는 후천적 반응능력에 대한 감수성 평가까지를 포괄하는 개념이다.¹

여기서는 폭로평가, 건강 영향평가 및 감수성 평가에 관한 생물학적 모니터링과 기타 일반적인 사항에 대해 언급하고자 한다.

1. 노출량 평가

효과적인 유해물질 관리 시스템을 개발하는데 있어서는 신뢰성있는 노출량 평가가 매우 중요한 선결과제이다. 근 100여년간 산업보건 분야에서 유해화학 물질에 의한 직업병을 예방하기위한 노출량 평가는, 주로 작업환경 중의 유해물질의 농도를 측정하는 작업환경 모니터링이나, 작업연한 등의 설문 조사등을 통한 폭로력 조사에 의해 이루어져 왔다. 이는 유해물질의 폭로량을 간접적으로 측정하는데 유용한 방법으로 직업병 예방에 성공적인 역할을 수행해 왔다. 그러나 작업환경 모니터링은 다음의 가정하에 이루어지게 되므로 결정적인 약점을 가지고 있다. 즉 1) 유해물질의 폭로는 호흡기에 의해서만 이루어 지며, 단위사업장 내의 모든 근로자의 호흡량은 같다. 2) 작업환경 중의 유해물질의 농도는 내부 흡수량을 반영한다는 것이다. 그러므로 작업강도에 따른 개개인의 호흡량 차이와 호흡기 이외의 흡수는 간과되고 있으며, 대상 물질의 증기압이 낮아질수록 내부 흡수량을 반영하는 농도를 측정하기가 더 어려워진다.²

내부 흡수량을 보다 잘 반영하는 것은 근로자 개개인의 생체 시료 중의 유해물질이나 그 대사산물의 농도를 측정하는 것이다. 생물학적 모니터링에 의한 노출량 평가는 호흡기를 통한 흡입이나 음식물 섭취, 피부 접촉 등 다양한 흡수 경로를 반영하므로 작업환경 모니터링과는 달리 유해물질의 폭로량을 직접적으로 반

영한다. 예를 들어 혈중 납의 경우 작업환경 중의 농도와 상관성이 낮게 나타날 수 있는데, 이것은 기중 납 농도가 곧 체내 흡수량을 반영하는 것이 아님을 나타냄으로서 생물학적 모니터링의 유용성을 보여주는 사례이다. 용접작업과 같이 보호구 성능, 착용유무에 따른 노출량 평가가 작업환경 모니터링 만으로 불충분한 경우 작업환경모니터링과 생물학적 모니터링은 상호 보완적인 작용을 하게 된다.³

표1. 노출평가 모니터링 시스템⁴

작업환경 모니터링	생물학적 모니터링
폭로량 측정	흡수량 측정
개개인에 대한 평가가 아님	개개인에 대한 평가
해당물질 자체를 측정	해당물질 자체나 대사산물을 측정
당일 폭로 반영	누적 폭로 반영

그러므로 작업환경 모니터링에 비하여 생물학적 모니터링의 잇점은 다음으로 요약된다. 1) 모든 흡수경로에 의한 폭로량을 알 수 있다. 작업환경 모니터링으로는 흡입에 의한 흡수만을 측정할 수 있는데 반해, 경구 및 피부흡수 등의 경로에 의한 폭로량을 반영한다. 특히 방향족 아민, 방향족 니트로 화합물, 페놀, 농약류, 글리콜 에테르류등은 피부로 신속히 흡수된다. 중금속은 물, 식품중에 함유되어 있으며 작업장 대기중의 분진에 함유되어 경구로 침투하기도 한다. 2) 작업강도, 운동량에 의한 섭취량의 증가를 반영할 수 있다. 안정시의 폐포 환기량은 5 L/min이며 보통의 운동에너지를 부하시킨 경우 폐포 환기량은 16 L/min로 이것과 병행하여 유해물질의 흡입량은 증가하게 된다. 이와 같은 차이를 반영하려면 생물학적 모니터링이 필요하다. 3) 흡수이전의 폭로 정도에 대한 정보를 얻을 수 있다. 독성물질 중에서 특히 관심이되고 있는 것은 인체에 오랜기간 축적되어 독성을 나타내는 물질들이다. 정상집단에 비하여 폭로군의 혈중 요중 농도가 높은 물질들은 건강장해를 예측할 수 있다는 면에서 보건 관리상 중요한 정보를 제공하게 된다. 4) 예방조치들의 실효성 여부를 평가할 수 있다. 유기용제 사업장에서 방독마스크를 사용한 경우, 마스크의 누출이나 비착용시에, 작업자에게 흡입된 유해물질 양은 생물학적 모니터링에 의해서만 측정할 수 있다. 이외에도 유해물질로 부터의 폭로를 줄이기 위한 조치를 취하기 전과 후의 체내 축적량을 비교하여

그 조치의 유효성 여부를 평가 할 수 있다.

예를 들어 미국의 경우 납이 포함된 휘발류의 사용이 금지된 이후 혈중납 평균치는 1976-1980년의 12.8 ug/dL에서 1988-1991년의 2.8 ug/dL로 줄었다. 무연 휘발류 사용이 납의 누적 폭로량을 줄이는데 효과적이었음을 생물학적 모니터링을 통하여 입증하였다. 5) 준노출위험군(At-Risk Sub-population)을 인식할 수 있다. 거주지역(고속도로변동), 식습관, 생활습관(흡연유무등), 지형적 영향에 따른 준노출 위험군에 대한 인식이 가능하다.⁵

Hewitt등은 '폭로량 평가의 한 수단으로서의 생물학적 모니터링은 작업환경 모니터링과 상호 보완적인 관계로서, 산업위생학자들이 보다 관심을 가져야 한다.'고 주장하였다. 그는 산업위생의 목적이 폭로량 평가와 통제(exposure assessment and control)에 있다는 점을 강조하며, 생물학적 모니터링을 통해 보다 직접적인 폭로량 평가가 가능함을 이유로 들었다.⁶

Gompertz는 생물학적 모니터링 결과가 건강 영향(health effect)보다는 노출량의 지표로서 더 가깝게 작용하고 있으므로 이를 효과적으로 활용하는 것이 산업위생학자들에게는 중요한 병기고(armoury)가 될 것이라고 말한다. 그는 이를 위해 산업위생학자들에게 시료채취시 근로자들에게 부담을 주지 않고, 작업환경 농도 측정에 비하여 현장에서 수시로 시료를 채취할 수 있어 특히 유기용제의 경우 폭로량을 잘 반영하는 지표로서 호기를 제시한다. 호기의 모니터링은 비파괴적이고 근로자들에게 부담을 주지 않아, 폭로군중 일부만을 선정하여 측정하는 작업환경 모니터링에 비하여 효과적이고 경제적으로 모니터링할 수 있게 된다.⁷

그러나 생물학적 모니터링을 실시함에 있어 시료채취의 어려움과 윤리적인 면 때문에 일반 임상검사와 더불어 함께 행해지는것이 일반적이다. 아직 제한된 항목외에는 노출량 평가나 건강영향 평가에 대해 뚜렷하고 구체적인 데이터가 부족할 실정이다. 그러므로 근로자 개인에게 직접적인 이익이 없이 생물학적 모니터링을 실시하는 것은 매우 조심스럽다. 이런 이유로 혈액이나 소변을 사용하는 모니터링은 대개 일반 임상검사와 함께 실시되는 것이 일반적이다.⁸

2. 영향, 감수성 평가

영향평가는 유해물질의 흡수에 의하여 일어나는, 가역적인 생화학적 변화 산물에 대한 모니터링을 말하며, 잠재적 건강 장애와 관련된다. 직접, 간접적으로 표적기관과 상호작용하는 정도를 평가하는 예로서는 일산화탄소 중독시 카르복시 헤모글로빈의 양을 측정하는 예가 있다. 이밖에 유전독성물질(genotoxic substances)에 대한 영향 평가 지표로서 DNA adduct 등을 들 수 있다. 체내 효

소 활성도와 관계된 여러 가지 지표들을 분석하는 예로서, 납폭로시 혈중 P5N 활성도 측정, 요중 코프로포르피린의 분석등이 여기에 속한다. 감수성 평가는 유해물질 폭로에 대해서 개개인의 선천적 또는 후천적 반응능력에 대한 모니터링을 말한다. Cytochrome p-450과 관련된 효소 활성도의 개인차이는 종종 결과 해석에 중요한 영향을 미칠 수 있다.⁹

3. 약물 동력학적 변이 요인

같은 유해물질에 대한 신체의 반응은 개인차이가 매우 크다. 이러한 개인차이는 두가지 측면에서 나타나게 되는데 1) 환경중 유해물질이 표적장기에 침투하는 정도의 차이와 2) 표적장기에서 외부의 유해물질에 대해 반응하는 정도의 차이에 의한다. 이와같은 약물동력학적 측면의 이해는 생물학적 모니터링의 실시와 결과 해석에 있어 매우 중요하다. 표에 흡수, 분포, 대사과정에 관련된 약물동력학적 변이의 요인들을 실었다.

표2. 약물동력학적 변이 요인들¹⁰

흡수	분포	대사
흡수 경로	신체크기	유전적 요인
물리적 형태	신체 구성	나이, 성별
용해도	단백질 결합	환경 폭로, 식습관
작업 강도	작업강도	음주, 약물복용
노출 농도	노출농도	신체 활동
노출 기간	노출기간	단백질 결합
피부 특성	생활습관	노출 농도

약물동력학적 모델 설정의 필요성은 1) 시간 경과에 따른 생물학적 지표 농도 추적, 2) 작업장의 노출정도와 생물학적지표 농도간의 상관성 추적 3) 노출정도의 변이요인 평가 - 노출기간, 농도변이, 노출양식, 작업강도 4) 생리적 변이요인 평가 - 폐활량, 심장박동량, 신체구조, 배설력 5) 실험실적인 결과로 부터 기준치로의 외삽 6) 유해물질의 체내 추적 정도 평가 7) 생물학적 지표와 건강장해 관계 확립 등에 있다. 약물동력학적 모델 설정을 위해서는 다양한 종류의 변수들을 필

요로 하며 기본이 되는 변수 설정은 다음 식으로 부터 유도 된다.

(1) 배설 속도 상수

$$C_t = C_0 e^{-Kt}$$

C_0 : 폭로 종료시의 농도

C_t : 폭로 종료 후 t 시간 뒤의 농도

K : 배설 속도 상수

(2) 반감기 : 체내 지표물질 농도를 1/2로 줄이는데 걸리는 시간

$$K = \frac{\ln 2}{t_{1/2}} = \frac{0.693}{t_{1/2}}$$

각 유해물질들의 반감기를 고려한 생체 지표물질들과 시료 채취 시간과의 관계를 실었다.

표3. 체내 지표물질 농도와 시간과의 관계¹⁰

Chemical	Determinant Timing	Half-life (hour)	Influence* of the last...				
			Hour	Day	Week	Month	Year
Cadmium	Cadmium in urine						
	Not critical	20 years					A
Cadmium in blood	Not critical	2400			A	A	C
Lead	Lead in blood						
	Not critical	900			A	B	D
	Lead in urine						
	Not critical	700			A	B	C
	Zinc protoporphyrine in blood						
	After 1 Month exposure	500			A	B	C
Dimethylformamide	N-Methylformamide in urine						
	End of shift	4	A	C	B		
n-Hexane	2,5-hexanedione in urine						
	End of shift	15	A	B	D		
	n-Hexane in end-exhaled air						
	During shift	0.25	E	A			
Methyl ethyl ketone	Methyl ethyl ketone in urine						
	End of shift	4	A	C	B		
Styrene	Mandelic acid in urine						
	End of shift	4	A	C	B		
	Styrene in mixed-exhaled air						

	Prior to next shift	20	A	C	
	Phenylglyoxylic acid in urine				
	End of shift	7	A	C	C
	Styrene in mixed-exhaled air				
	During shift	0.25	E	A	
	Styrene in blood				
	End of shift	0.5	D	B	
	Styrene in blood				
	Prior to next shift	13	A	B	
Toluene	Hippuric acid in urine				
	End of shift	1.5	B	D	
	Toluen in venous blood				
	End of shift	0.5	D	B	
	Toluen in end-exhaled air				
	During shift	0.5	D	B	
Trichloroethylene	Trichloroacetic acid in urine				
	End of workweek	75	A	D	B
	Trichloroethanol in blood				
	end of shift and end of workweek	12	A	B	D
	Trichloroethylene in end-exhaled air				
	Prior to shift and end of workweek	30		A	C
Xylenes	Methylhippuric acids in urine				
	End of shift	36	A	D	B

*A = 5-20% influence, B = 20-40% influence, C = 40-60% influence, D = 60-80% influence
E = >80% influence

4. 생물학적 모니터링 수행의 필요요건

생물학적 모니터링을 수행함에 있어서 필수적인 요건들은

- 1) 적절한 생체 시료의 가용성
- 2) 적절하고 신뢰성있는 분석법의 확립과 정도관리
- 3) 폭로정도나 건강영향을 반영하는 적절한 지표물질의 선택
- 4) 적용 가능한 참고치와 기준치의 가용성 등이다.

1) 적절한 생체시료의 가용성

생체시료는 근로자에게 부담을 주지않는 범위에서 충분한 양을 확보할 수 있어야 한다. 따라서 혈액이나 소변이 가장 많이 사용되었다. 혈액은 전 장기에 일정한 상태로 순환하며 대표성 있는 농도를 나타내고 구성성분의 개인차가 적다는 장점이 있지만, 채혈량이 제한되어 있으며 약물동력학적 변수에 영향이 크다는

단점이 있다. 소변은 많은 양의 시료를 확보할 수는 있지만 농도보정이 필요하다는 단점이 있다. 최근에는 시료채취시 근로자들에게 부담을 주지 않고, 작업환경 농도 측정에 비하여 현장에서 수시로 시료를 채취할 수 있어 특히 유기용제의 경우 폭로량을 잘 반영하는 지표로서 호기를 사용하기도 한다. 별표에 혈액과 소변, 호기의 모니터링에 관련된 사항을 정리했다.

표. 혈액, 소변 및 호기의 생물학적 모니터링

혈액을 사용한 모니터링

- 혈액 모니터링의 장점
 1. 구성성분의 개인간 차이가 적다.
 2. 시료채취시 오염되는 경우가 적다.
- 혈액 모니터링의 단점
 1. 시료채취시 근로자에 부담을 준다.
 2. 보관,처치에 주의를 요한다.
 3. 약물동력학적 변이 요인들에 영향을 받는다.
- 시료채취, 보관, 분석시 고려사항
 1. 생물학적 기준치는 정맥혈을 기준
 2. 적절한 항응고제 선정
 3. 고무마개에 의한 흡착 고려
 4. 중금속 측정시는 용기에 의한 오염 방지 대책 필요
 5. 분석용 시료채취시 균질성 확보
 6. 혈액중 지표물질의 존재 상태에 따른 분석법 검토 - pH에 의존
 - 자유형
 - 결합형 : 페놀, 삼염화물, 아미노 페놀 등
 - 단백질 결합 : 극성 물질
 7. 휘발성 물질 측정시 시료 손실을 방지하기 위하여 최대 용량으로 채취

소변을 사용한 생물학적 모니터링

- 소변 모니터링의 장점
 1. 비파괴적 시료채취

2. 많은 양의 시료 확보가능
- 소변 모니터링의 단점
 1. 소변 배설의 변이요인 - 보정필요
 2. 시료채취중 오염 가능성
- 소변 배설과 관련된 참고치(평균, 범위)
 1. 소변량(L/day) : $1.2 \times (0.6-2.5)$
 2. 고형물 양(g/day) : 50(30-70)
 3. 비중 : 1.020(1.003-1.030)
 4. 크레아티닌(g/day) : 1.0-1.6
(g/L) : 1.0(0.3-3.4)
 5. 산도 : 6.0(4.6-8.0)
- 시료채취, 보관, 분석시 고려사항
 1. 시료채취 시간에 신경을 써야 한다.
 2. 시료 오염에 주의
 3. 시료의 농축도

$$1.010 < \text{비중} < 1.030$$

$$0.5 \text{ g/L} < \text{크레아티닌} < 3 \text{ g/L}$$

호기를 사용한 모니터링

- 휘발성물질, 대사율이 낮은 물질에 적용
- mixed-exhaled air : 150ml
end-exhaled air : 30-50ml
- 시료채취, 보관, 분석시 고려사항
 1. 폭로 전과 폭로후 시료채취
 2. 반감기가 짧으므로 노출 직후 채취
 3. 작업전 근로자에 시료채취 요령을 숙지시킨다.
 4. 여러회 측정으로 대표성 확보.
 5. 수증기에 의한 응축의 영향 고려
 6. 이산화탄소 농도로 보정

2) 적절하고 신뢰성있는 분석법의 확립과 정도관리

생물학적 모니터링을 실시함에 있어 중요한 점은, 생물학적 모니터링의 많은 적용성에도 불구하고 현실적으로 적용가능한 분석방법이 매우 제한되어 있다는 것이다. 현재 작업환경과 관련된 항목들은 NIOSH 분석법을 비롯한 공정 시험법이 제시되어 있다. 그러나 생물학적 모니터링과 관련된 항목에서는 매우 제한된 항목에 대해서 분석법이 제시되어 있다.

생물학적 모니터링의 발달은 거의 전적으로 해당 parameter 의 분석 방법 확립 유무에 의존한다. 대표적인 예로 많은 종류의 농약류나 nitrosoamine류, carbamate류 등은 분석 방법이 개발되어 있지 않아 폭로량 평가에 매우 어려움을 겪고 있다. 그 중 PAH류는 최근 HPLC에 의한 1-hydroxy pyrene과 1, 2 and 9, 4-hydroxy pyrene의 동시분석법들이 소개되면서 PAH의 생물학적 모니터링에 대한 연구 결과들이 보고되고 있다. 생물학적 모니터링과 관련된 분석에 있어서 또 하나의 어려움은, 대부분 시판되는 표준품으로부터 표준시료의 조제가 가능한 작업환경 시료에 비하여, 생체시료 중의 해당되는 항목에 대한 표준시료를 구하는 것이 매우 어렵다는 점이다. 그 이유는 첫째, 혈액이나 소변 중에는 자연 폭로량이 들어 있기 때문에 실험실적 첨가에 의해 원하는 농도의 표준시료를 조제할 수 없다는 점과, 둘째, 표준시료의 균질성, 안정성 확보가 기술적으로 어렵다는 점이다. 이처럼 실험실 데이터의 신뢰성 확보에 필요한 표준시료를 구하기 어렵다는 것은 생물학적 모니터링의 실시와 해석에 있어 커다란 제한점으로 작용한다.¹¹

따라서 비록 제한된 항목에 대해서나마 정도관리가 실시되고 있는 것은 다행스러운 일이며, 정도관리가 실시되지 않고(또는 못하고) 있는 항목에 대해서는 사실상 데이터의 객관적 신뢰성 확보가 불가능하며, 이러한 경우 실험실간 데이터 비교는 신중을 요한다. 예를 들어 혈중납의 경우 우리나라 정상인의 혈중납 농도는 정도관리가 시작되던 1995년을 기점으로 그 이전엔 15-25 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 에서 최근에는 5 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 내외로 낮아졌는데, 이것은 실제 우리나라 사람의 혈중 납 농도가 몇 년 사이에 갑자기 낮아졌다고 보다는 (물론, 우리나라 사람의 혈중 납 농도는 1991년 무연휘발류 사용이 의무화 되면서 어느정도 낮아진 것은 사실이지만,) 정도관리제도의 도입으로 실험실의 분석값이 관리되었기 때문으로 보는 것이 타당할 것이다. 다행스럽게도 최근에는 각 나라별로 정도관리 프로그램이 운영되고 있어서 제한된 항목에 대해서는 분석데이터의 상호 비교 및 활용이 가능하게 되었다.¹²⁻²³

그러므로 생물학적 모니터링의 적절한 해석을 위해서는, 분석 데이터의 정확성,

정밀성 확보가 필수적이며 이를 위한 정도관리의 실시가 매우 중요한 역할을 하게 된다. 정도관리 프로그램을 수행함에 있어 1) 표준화된 분석법의 확립, 2) 균질하고 안정한 표준시료의 공급이 중요한 선결 과제이다 .

3) 폭로정도나 건강영향을 반영하는 적절한 지표물질의 선택

적절한 생체시료의 선정과 함께 생물학적 모니터링을 실시하는데 있어 중요한 요건은 체내 폭로량이나 영향을 적절하게 반영할 수 있는 지표물질을 선정하는 것이다. 지표물질을 선정하여 모니터링하는 방법에는 다음의 두가지가 있다.¹⁶

(1) 특이적 방법(specific method)

생체 시료중의 유해물질 자체나 그 대사산물을 분석하는 방법으로 예를 들면 수은, 벤젠, 스티렌의 폭로 지표로서 요중 수은, muconic acid, 만델산 등을 분석하는 것이 여기에 속한다. 현재 일반적 생물학적 모니터링은 이와같은 방식으로 이루어 진다.

(2) 비특이적 방법(non-specific method)

일군의 독성물질에 대하여 비특이적 지표를 측정하는 것을 말한다. 즉, 발암성 물질에 대한 노출 지표로서 요중 thioether류를 분석하는 것 등을 말한다. 이러한 모니터링의 특징은 개인차이가 심하고 특이성이 부족하기 때문에 개인의 폭로 지표로서는 사용할 수 없다는 점이다. 이 방법은 적절한 대조군이 있다면, 폭로 집단간의 정성적(qualitative)평가 지표로서는 사용될 수 있다.

4) 적절한 결과해석을 위한 참고치와 기준치의 가용성

생물학적 모니터링 결과의 해석을 위해서는 적절한 참고치(reference value)와 한계치(tolerance value)가 설정되어 있어야 한다. 정상치는 95%의 신뢰도 범위에서 직업적으로 노출되지 않은 사람들의 주어진 파라미터에 대한 평균값을 말한다. 최근 국제 전문가 집단의 회의에서는 참고치 설정의 필요성에 대한 논의가 이루어지고 있다. 일부 중금속, 유기염소계 화합물, 유기용제 등은 참고치 설정이 가능하다. 이와 같은 참고치 설정의 중요성은 검사결과를 이들 값과 비교함으로써 이들 값과의 비교를 통하여 직업적 노출이 이루어 지고 있는지 여부를 판단할 수 있기 때문이다.

그러나 산업보건 분야에서는 한계치 설정이 무엇보다 중요하다. 미국 ACGIH에서는 ‘유해물질의 TLV-TWA에 해당하는 농도수준에서, 폭로경로가 단지 호흡기를 통한 흡입만일 때 건강한 근로자로부터 채취한 생체시료에서 얻은 생물학적 지표의 농도로서, 건강에 대한 잠재적인 위험의 평가를 위한 지침’으로 BEI

(Biological Exposure Indices)를 제안하고 있다. 총 43가지 물질의 69 항목 대한 지침이 제시되어 있다.²⁴

독일의 경우 ‘직업적 폭로에 대한 생물학적 한계치’로서 BAT(Biologischer Arbeitsstoff-Toleranz-Wert, Biological Tolerance Value for Occupational Exposures) 값을 제시하고 있다. BAT 목록은 매년 재개정된다. 그러나 BAT는 ‘근로자의 건강상 장애를 주지 않는 유해물질이나 그 대사물의 허용가능한 최대 농도’로 정의되어 있다. 그러므로 BAT value는 건강한 개인의 천정치(ceiling value)에 해당한다. BAT이상의 폭로가 일어나고 있다고 하더라도 항상 건강 기능상의 유해성을 나타낸다는 것은 아니며, 설령 건강영향이 일어났다 하더라도 반드시 비가역적 이라는 것을 의미하지는 않는다.²⁵

참 고 문 헌

1. Pirkle JL, Needham LL, Sexton K, Improving exposure assessment by monitoring human tissues for toxic chemicals, J of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology, vol5, no3, 405-424, 1995
2. Hoet P, Haufroid V, Biological monitoring: state of the art, Occupational and Environmental Medicine, v054, 361-366, 1997
3. Pirkle JL, Sampson EJ, Needham LL, Patterson DG, Ashley DL, Using biological monitoring to assess human exposure to priority toxicants, Environ Health Perspect, 103(suppl 3) 45-48, 1995
4. Rappaport SM, Symanski E, Yager JW, Kupper LL, The relationship between environmental monitoring and biological markers in exposure assessment, Environ Health Perspect, 103(suppl 3) 49-54, 1995
5. Pirkle JL, Brody DJ, Gunter EW, The dead line in blood lead levels in the United States: the National Health and Nutrition Examination Surveys(NHANES), J Am Med Assoc 272, 284-291, 1994
6. Hewitt PJ, Sanderson JT, The role of occupational hygiene in exposure assessment by biological indices, Ann Occup Hyg vol37, no5, 579-581, 1993
7. Gompertz D, The role of the hygienist in biological monitoring, Ann Occup Hyg, vol38, no2, 117-118, 1994
8. Murthy LI, Halperin WE, Medical screening and biological monitoring, JOEM vol37, no2, 170-184, 1995
9. Anger J, Gundel J, Biomonitoring and occupational medicine - Possibilities and limitations, Ann Ist Super Sanita, vol32, no2, 199-206, 1996

10. PO Droz, Biological monitoring I: Sources of variability in human response to chemical exposure, *Appl Ind Hyg*, vol4, no1, F20-F24, 1989
11. Rappaport SM, Biological monitoring and standard setting in the USA: a critical appraisal, *Toxicology letters*, vo77, 171-182, 1995
12. Yang JS, Kang SK, Park IJ, Rhee KY, Moon YH, Sohn DH, *Lead concentrations in blood among the general population of Korea, Int Arch Occup Environ Health*, 68:199-202 (1995)
13. Weber JP, *An interlaboratory comparison programme for several toxic substances in blood and urine, Sci Total Environ* 111-123 (1988)
14. Schaller KH, Angerer J and Lehnert G, *Current status of the external quality assurance programmes of the German Society for Occupational and Environmental Medicine, Toxicology letters* 77:213-217.(1995)
15. Center for Disease Control and Prevention - National Institute for Environmental Health (CDC-NCEH), *Program description on interlaboratory comparison program*, (1996)
16. Wilson HK, Recent policy and technical developments in biological monitoring in the United Kingdom, *The Science of the Total Environment* 199, 191-196, 1997
17. Sugita,M. , Harada,A. , Taniguchi,M. , Saito,M , Imaizumi,K. , Kitamura,M., Kodama,Y. Mori.,Y. . Wada,O. and Ikeda,M. *Quality control program on biological monitoring by Japan Federation of occupational Health organizations, Occup Environ Health* 62:569-577.(1991)

18. Lowry,L.K. *A general overview of existing methodology and quality assurance schemes in biological monitoring, A working document prepared for the planning meeting:Harmonization of methods and quality assurance in biological monitoring of the WHO global project: Biological monitoring in assessment of risk from exposure to chemicals, Kyoto, Japan. (1992)*
19. Anglov,T. , Holst,E. and Christensen,J.M. *Danish external quality assessment scheme: an interlaboratory comparison study on lead, cadmium and chromium in lyophilized human blood concentrate, Int Arch Occup Health, 64:431-438.(1993)*
20. Yang, J.S., Lee, M.Y., Park, I.J., Moon, Kang, S.-K., *Korean analytical quality assurance program for biological monitoring, Int Arch Occup Environ Health, in print (1997)*
21. *IUPAC IOS AOAC International Harmonized guidelines for internal quality control in analytical chemistry laboratories, personal communication with M. Thompson, University of London, Pure Applied Chemistry 1(1994)*
22. Anglov,A.T.B. and Christensen,J.M. *Comparative study of certified reference materials and quality control materials for the quality assurance of blood lead determination, Analyst, 117:419-424.(1992)*
23. Caroli,S. *Certified reference materials: use, manufacture and certification, Analytica Chimica Acta, 283: 573-582.(1993)*
24. ACGIH, 1997 TLV and BEIs
25. DFG, List of MAK and BAT values 1996

II. 무기분석(Inorganic analysis) 이론

- 원자흡수분광광도법 (Atomic Absorption Spectrometry)

1995년 Australia의 분광학자인 Walsh¹ 등의 연구에 의하여 새로운 화학분석법으로 등장한 원자흡수분광법(Atomic absorption spectrometry, AAS)은 금속원자를 불꽃 또는 전기로 등에 의하여 높은 온도로 가열함으로써 만들어진 기체상태의 중성원자에 적당한 복사에너지 (자외선 또는 가시선 영역)를 쏘여줌으로써 일어나는 복사에너지 흡수현상을 기초원리로 한 분석방법이다. 이 방법은 비교적 조작이 간편하고, 방해영향이 심각하지 않으며, 감도가 예민하여 극미량 금속원소(ppb 정도)를 정확하게 분석할 수 있다. 따라서 다른 분석법에서 요구되는 여러 가지 문제점을 효과적으로 해결해 주고 있을 뿐만 아니라, 특히 그 원리의 차이(흡수와 발광)는 있지만 원자형광분광법(Atomic fluorescence spectrometry, AFS) 및 불꽃발광분광법(Flame emission spectrometry, FES)과는 장치가 비슷하여 한가지 기기로 이들 방법을 겸할 수 있어서 각 방법의 장점을 충분히 이용할 수 있는 이점도 있다.

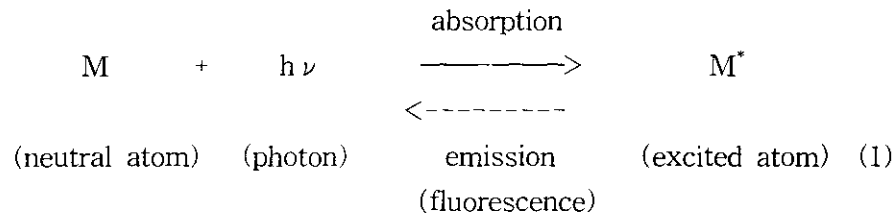
최근 10여년간 원자흡수분광법은 기기장치 및 분석방법의 개선과 개발로 인하여 분석이 가능한 원소가 금속뿐만 아니라 B, P등과 같은 비금속원소에 이르기까지 약 70여종 원소로 확대되었다. 아울러 검출한계가 비약적으로 향상됨으로써 다양한 학문 분야에서 응용되고 있다. 그 중에서 순수한 물질중의 불순물 분석과 광물, 생체 및 각종 공해시료중의 미량금속을 분석하는데 있어서 없어서는 안될 유력한 분석법으로 각광을 받고 있다.

1. 원리 및 이론

1) 원자흡수, 원자형광 및 발광

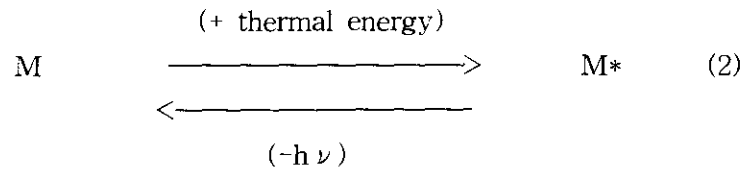
분자결합이 작용하지 않는 중성원자구름(neutral atomic cloud)에 복사선을 쏘여주면 원자는 복사에너지 즉, 광자(photon)를 흡수하여 바닥상태(ground state)에 있는 전자가 높은 에너지준위로 전이(transition)를 일으켜서 들뜬원자(excited atom)로 된다. 반대로 들뜬원자 흡수하였던 에너지를 방출하면서 원래의 바닥상태로 되돌아오게 되는데 이와 같은 전자의 전이현상을 원자흡수(atomic absorption) 및 원자형광(atomic fluorescence)이라 하고 이 때 원자흡수 및 원자형광(발광)스펙트럼이 나타나게 된다.² 특히 원자형광의 경우를 보면 원자가 흡수하였던 동일한 파장의 에너지를 방출하고 원래의 바닥상태로 되돌아 올 때는

resonance fluorescence, 바닥상태보다 약간 높은 에너지준위(metastable state)로 돌아올 때에는 direct line fluorescence라고 한다. 만약 중성원자와 들뜬원자 및 광자가 평형을 이루고 있다고 하면 원자흡수와 원자형광의 관계는 식(1)과 같이 나타낼 수 있다.



한편 흡수하였던 복사에너지를 다시 복사에너지형태로 방출하는 원자형광과는 달리 열에너지 흡수하여 들뜬원자가 복사에너지를 방출하면서 낮은 에너지 상태로 돌아오는 경우도 있다. (식2) 이러한 방출현상은 원자발광(atomic emission)이라고 하며 밝은 선의 원자발광 스펙트럼이 나타난다.^{2,3}

특히, 열에너지원이 불꽃일 때에는 불꽃발광(flame emission)이라고 한다.



이와 같은 원자흡수, 원자형광 및 발광의 세 가지 현상을 원리로 한 분석법(AAS, AFS, AES)이 발전되고 있는데 흡수와 방출이라는 원리의 차이는 있지만 장치가 비슷하기 때문에 원자흡수분광광도계의 한가지 기기를 이용하여 이들 세 가지 방법을 함께 분석할 수 있다.

2) 원자흡수스펙트럼과 Beer-Lambert 법칙

일반적으로 원자의 가장 바깥껍질전자가 전이할 때 흡수하는 복사에너지는 자외선 및 가시선 영역의 파장에 해당되는데, 원자마다 가장 바깥껍질전자의 에너지준위가 각각 다르기 때문에 원자들은 고유한 파장의 복사선을 흡수하게 된다. 이때 나타나는 스펙트럼은 원자흡수선(atomic absorption line)이라고 한다. 예로서 Na원자의 경우를 보면 3s 준위에 있는 가장 바깥껍질전자가 보다 높은 에너지

지준위인 3p 또는 4p준위로 전이하기 위해서는 589nm과 330nm에 해당하는 복사선을 각각 흡수하여야 한다. 실제로 Na원자의 흡수 스펙트럼은 589.00nm와 330.30nm등에서 예민한 이중선(doublet)으로 나타난다. 이 때 스펙트럼이 각 파장에서 이중선으로 나타나는 것은 전자들의 스핀상태가 다르므로 인하여 그 에너지가 약간씩 차이가 있기 때문이다. 이상과 같은 전이 외에도 3p 또는 4p보다 더 높은 에너지준위로 전이하거나 3p준위로 전이된 들뜬전자가 다시 3d 및 5s 등으로 전이할 수 있으나 그 확률이 대단히 낮기 때문에 흡수스펙트럼의 세기가 약하여 거의 나타나지 않는다. 따라서 589nm와 330nm에서 나타나는 스펙트럼이 대표적인 Na원자의 흡수선이며 특히 가장 예민하게 흡수는 589nm는 Na를 분석할 때 주로 사용하고 있는 분석파장(analytical wavelength)이다. 만약 원자가 들뜨기에 알맞은 파장의 원자흡수공명선을 다음과 같이 원자증기에 쏘여주면 일부는 흡수되고 나머지는 통과할 것이다.

이 때 원자들에 의해서 흡수되는 흡광도는 Beer-Lambert Law에 의해 다음과 같이 나타낼 수 있다.

$$I_{\lambda} = I_{\text{exp}} - K_{\lambda}Lc \quad (3)$$

$$A = \log \frac{I}{I_{\lambda}} = K_{\lambda}LC \quad (4)$$

여기에서

I_{λ} = intensity of source at wavelength λ

I = intensity of transmitted radiation

K_{λ} = absorption coefficient

L = path length of light through the sample

C = concentration of the sample (number of neutral atom)

식 (4)에서 흡광도 A 는 L 이 일정할 때 중성원자의 수, 즉 시료의 농도 C 에 비례하므로 함량기지의 표준시료와 함량미지 시료의 흡광도를 측정하고 표준시료의 농도와 그 흡광도를 plot하여 얻어지는 표준곡선을 이용함으로써 미지시료의 농도를 정량할 수 있다.

2. 기기

원자흡수분광광도계는 다른 분광광도계의 구조와 비슷하여 광원, 시료용기(AAS에서는 원자화장치), 단색화장치, 검출기, 판독계, 지시계 등으로 구성되어

있다.

1) 광원 (Radiation Source)

원자흡수선은 폭이 대단히 좁기 때문에 광원으로부터 발광되는 에너지를 원자들이 완전히 흡수하기 위해서는 hydrogen lamp와 같이 넓은 폭($5\text{\AA}$ 정도)의 스펙트럼을 발광하는 연속광원(continuous source)은 사용할 수 없고 각 원자마다 들뜨기에 알맞은 폭이 좁은 복사선 즉, 공명선을 발광하는 특수한 장치의 광원이 필요하다.

이러한 조건을 만족하는 몇 가지 광원이 고안되긴 했지만 AAS에서는 주로 저압음극방전장치로 된 속빈음극램프(Hollow cathode lamp, HCL)를 광원으로 사용한다.⁹⁻¹³ HCL은 분석하고자 하는 원소의 순수한 금속이나 합금이 음극으로 되고 낮은 압력 ($1\sim 10\text{ mmHg}$)의 Ar 또는 Ne과 같은 불활성기체가 들어 있는 관으로서, 양극에 높은 전압을 걸어 주어 기체를 방전하여 이온화시키고 이 때 생기는 양이온이 음극을 때리면 음극표면의 금속원자가 음극표면으로부터 떨어져 나오면서 원자구름을 만드는데 이같은 현상을 텅김(sputtering)이라 한다. 텅겨 나온 원자는 불활성기체와 충돌하여 그 원자의 고유한 공명선을 발광한다. 양극간에 흘려주는 전류의 세기는 $100\sim 200\text{ volt}$ 에서 $5\sim 10\text{ mA}$ 가 가장 적당하며 충전기체의 선택은 음극물질에 따라 달라진다. 즉 Fe나 Ni과 같은 비교적 비휘발성인 금속은 이온화전압이 큰 Ne이 적당하며 Li과 As같이 휘발성이 큰 금속은 강한 Ne의 방출선이 이들 원소의 line과 겹침으로써 Ne은 오히려 부적당하다.

일반적으로 Ne이나 He보다 Ar을 주로 사용하는데 이것은 Ar의 이온화전압이 낮고 질량이 큰 관계로 음극물질의 텅김을 증가시키기 때문이다.¹³

충전기체의 압력이 커지면 ionic line의 세기도 따라서 커지므로 이를 줄이기 위하여 3 mmHg 정도의 낮은 압력이 적당하다. 또한 lamp는 사용회수가 증가함에 따라 음극물질이 소실되고 충전기체의 압력이 감소하므로 자연히 소멸되는데 재생하기는 곤란하다. Lamp의 수명은 음극물질의 종류에 따라 다르지만 일반적으로 걸어주는 전류장에 비례하는데 약 100 mA 에서 $1,000$ 시간 정도 사용할 수 있다. 또한 lamp를 사용하지 않고 방치하여도 그 수명이 단축되는데 이는 lamp내의 불활성기체가 음극물질 표면을 덮게 되어 음극물질의 활성을 감소시키기 때문이다. 따라서 lamp를 주기적으로 활성화시킬 필요성이 있다.

일반적으로 음극물질이 한 가지 종류의 원소로 되어 있는 단일원소 램프(single element lamp)가 주로 사용되고 있는데 가격이 비싸고, 각 원소를 분석할 때마다 해당원소의 lamp를 갈아 끼워야 하는 등 불편한 점이 있다. 따라서 공명선이 서

로 겹치지 않는 3~4개의 원소들이 합금을 음극물질로 한 복합원소 램프(multi element lamp)가 몇가지 제작되어 널리 이용되고 있는데 사용하기에는 편리하지만 single element lamp에 비해 감도가 낮다.

또한 lamp의 방출선강도를 증가시키기 위해서 electron emissive 물질을 입힌 보조음극을 가진 High brightness lamp를 사용하면 낮은 전압에서도 많은 전자가 생성되어 발광선의 세기는 보통 lamp보다 10~100배 가량 증가되며 따라서 감도도 좋아진다.¹³

한편 As, Se, Te 등과 같이 비교적 휘발성이 큰 원소들은 안전하고 수명이 긴 속빈음극램프를 만들기 곤란하다. 현재 이들 원소의 HLC도 상품화되고 있지만 이 경우에는 주로 전극없는 방전관(Electrodeless discharge lamp, EDL)을 광원으로 사용한다.^{14~17} EDL은 그림8과 같이 적은 양의 순수한 금속이나 요오드화물을 넣은 silica bulb를 낮은 압력의 불활성기체와 함께 방전관내 라디오주파수(RF)코일의 공동에 넣는다.

2) 원자화장치 (Atomizer)

원자흡수분광법에서 감도(sensitivity)에 영향을 미치는 가장 중요한 인자는 원자화과정으로서 앞절의 식(5)에 나타낸 바와 같이 이온이나 분자상태의 시료로부터 효율적인 방법으로 중성원자 증기를 만들고 재현성있게 광로(optical path)에 분산시켜야 한다.

이러한 목적으로 원자화방법이 다각적으로 연구되어 왔으며 아울러 여러 가지 모양의 원자화장치(atomizer)가 고안되었다. 원자화방법은 주로 열에너지원에 따라 구분하는데 불꽃방법(flame method)과 비불꽃방법(noflame 또는 flameless method)이 있다.

불꽃방법은 분산시킨 시료방울을 불꽃온도에 의해서, 비불꽃방법은 불꽃이 아닌 다른 에너지원에 의하거나 또는 전혀 열에너지를 이용하지 않고 화학적인 방법으로 원자증기를 만드는 방법이다. 불꽃형 원자화장치(flame atomizer)는 조작성이 편리하여 AAS에서 보편적으로 사용되고 있지만 높은 불꽃온도에 의하여 들뜬원자 및 이온 등이 비교적 많이 생성될 뿐만 아니라, 원자가 불꽃내 연소가스나 주위의 공기에 의해 산화물등 여러 가지 화합물을 형성하게 되므로 열분해가 불완전하여 진다. 실제 원자화효율은 시료중에 있는 원자의 약 10%정도 밖에 지나지 않는다. 따라서 원자화효율을 높이기 위하여 불꽃 대신 전기에너지 또는 화학적 반응 등에 의한 방법으로 원자화를 시키는 비불꽃형 원자화장치가 등장하였다. 비불꽃형은 불꽃형보다 원자화효율 즉 감도가 월등히 높으며 위험도가 적고

분석할 수 있다는 이점이 있어서 최근 공해분석 등 특수분야에서의 이용도가 크게 증가하고 있다. 표은 원자화장치의 종류 및 특징을 수록한 것이다.

표. 원자화장치의 종류 및 특징

Type	Atomizer의 종류	장 점	단 점
Flame type	Total consumption atomizer	1. 제작 및 조작이 불편하다. 2. 시료전체가 불꽃에 aspirate 된다. 3. Unburned gas에 의해서 폭발 위험이 없다.	1. Aspiration이 불완전하다. 2. 점도가 큰 시료는 aspirate가 곤란하다. 3. Drop size가 불균일하다. 4. Burner tip이 막히기 쉽다.
	Premix atomizer	1. Aspiration 되는 양이 많다. 2. Drop size가 균일하여 atomization 효율이 크다. 3. 감도가 높고 재현성이 있다. 4. Burner tip이 잘 막히지 않는다.	1. 연소기체의 양이 많아 폭발할 위험이 있다. 2. 미중발분의 축적으로 시료에 오염될 가능성이 있다.
Non-flame type	1. Flash heating atomizer 2. King furnace atomizer 3. L'vov furnace atomizer	1. 산화작용을 방지할 수 있어 atomization 효율이 크다. 2. 시료를 전처리 하지 않고, 직접 분석이 가능하다. 3. 부식을 잘 당하지 않고 오염을 막을 수 있다. 4. 감도가 좋다. (10^{10} level) 5. 적은 양의 시료로도 분석이 가능하다.	1. Vacuum UV region에서 resonance line을 가지는 원소는 곤란하다. 2. U, Th, Zr과 같이 증기압이 낮은 원소는 감도가 좋지 않다.
	1. Cold vapor method 2. Hollow cathode atomizer	1. 휘발성이 큰 원소(Hg 등)와 비금속원소(P, S 등) 및 isotope 분석에 사용된다. 2. 감도가 대단히 좋다. ($10^{-10} \sim 10^{-12}$ g)	

3) 불꽃 방법

불꽃방법에 의한 원자화는 첫째, 시료용액을 가급적 많고 고르며 작은 방울로 분산 (nebulization) 시키고 둘째, 적당한 온도의 불꽃으로 용매를 증발, 화합물을 열분해하고, 셋째 증기상태의 중성원자를 만드는 세 가지 과정을 거친다. 이러한 점을 고려하여 두가지형의 atomizer 상품화되었다. 즉 시료용액, 연료가스(fuel gas) 및 보조기체(supporting gas 또는 oxidant)를 각기 다른 통로로 내보내어 burner 끝부분에서 섞이게 하는 total consumption형¹⁸과 미리 이들을 섞어서 내보내는 premix형이 있다. ^{19,20} 그러나 AAS에서 주로 많이 사용하는 atomizer는 premix형으로 시료를 방울로 분산시키고 분산된 시료방울과 연료 및 조연가스를 섞이게 하는 nebulizer와 spray chamber, 그리고 불꽃을 만드는 burner등 세가지 부분으로 되어있다.

불꽃에서 일어나는 열반응과정에서 반응을 지배하는 요인을 요약하면 표4와 같다. 여기서 원자화효율에 영향을 주는 인자 가운데 중요한 것은 시료의 방울크기(drop size)와 흡입량(uptake size 또는 aspiration rate), 불꽃의 온도 및 불꽃에서 만들어지는 화합물의 열적 안정성(thermostability) 등이다.

(1) 시료의 방울크기와 흡입량

불꽃에 분산도는 시료의 방울크기가 불균일하거나, 흡입량은 많을수록 좋지만 너무 많아지면 불꽃에서 용매를 증발하는데 많은 에너지를 소비하게 되므로 열분해가 불충분해진다.

따라서 원자화효율이 감소되기 때문에 고른 크기의 작은 방울을 적당한 불꽃으로 분산시켜야 한다. 최근에는 감도를 높이기 위하여 시료에 킬레이트시약을 가하여 킬레이트를 형성시킨 다음 적당한 용매로 추출하여 분무시키는 용매추출법을 많이 이용하고 있다.

(2) 불꽃 온도

불꽃은 시료용매를 증발하고 고체화합물을 기체상태로 만든 다음 열분해하여 가급적 들뜬원자와 이온의 형성을 막고 중성상태의 원자로 전환시킬수 있는 적당한 온도이어야 한다. 불꽃 온도는 연료와 조연기체의 종류 및 흘림속도 등으로 조절이 가능한데 분석하려는 원자의 화학적(산화성), 열적성질을 고려하여 적당한 불꽃온도를 선택하여야 한다.

일반적으로 휘발성이 큰 원소는 낮은 온도의 H_2 -air 불꽃, 비교적 산화물을 잘 형성하는 Al, Ti 등 내화성원소들은 고온이며 환원성불꽃인 $C_2H_2-N_2O$ 불꽃이 적당하며 그 밖의 대부분 원소들은 C_2H_2 -air 불꽃을 사용한다.

또한 연료와 조연기체의 혼합비에 따라서 불꽃의 모양과 온도의 분포가 약간씩 달라지기 때문에 원소들마다 중성원자가 형성되는 불꽃의 region이 각각 다르다. 따라서 분석하기 전에 분석하고자 하는 원소에 알맞는 기체의 혼합비와 불꽃의 region(burner height)을 조절하여야 한다.

4) 비불꽃 방법

비불꽃방법은 불꽃 대신 다른 에너지 즉 hollow cathode방전, 전기 arc, laser, 고주파 및 초단파 plasma, filament나 고온전기로 등에 의해 원자화시키는 방법^{2, 5-33}과 에너지원을 이용하지 않고 화학적 방법으로 원자증기를 만드는 cold vapor 법이 있다.^{34,35} 그 중에서 일반적으로 많이 이용되고 있는 고온 전기로법과 cold

vapor법에 관하여 소개하겠다.

(1) 고온 전기로법

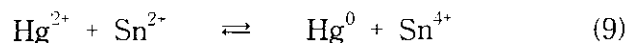
고온 전기로법은 3단계로 온도를 조절하여 원자화를 시키는데 첫째 100℃ 이하의 온도에서 시료용매를 증발시키는 건고단계(dry stage), 둘째 증발 건고된 유기, 또는 무기화합물을 열분해시키는 회화단계(ash stage, 1500℃ 이상), 셋째 회화된 시료를 2500℃ 정도의 고온으로 처리하여 중성원자를 만드는 원자화단계(atomized stage)로 나눌 수 있다.

고온 전기로법에 의한 원자화장치는 graphite tube나 cup을 두 전극 사이에 접촉시킨 것이다. 원자화장치의 온도는 전극에 가하는 전압과 시간을 조절함으로써 가능한데 각 단계에서 조작하는 온도와 시간은 시료와 분석하려는 원소의 종류 및 성질에 따라 임의로 선택하여야 한다. 또한 원자화장치를 가열하는 동안 시료나 원자화장치 자체의 산화를 방지하고 graphite tube로부터 증발 또는 확산되는 증기를 제거하기 위하여 Ne이나 Ar과 같은 불활성기체를 흘려주어야 한다.

특히 이 경우는 시료를 5~100 μ l 정도로 대단히 적은 양을 가하기 때문에 원자화장치에 시료를 가할 때 그 부피가 일정하지 않으면 분석에 오차를 수반하게 되고 재현성이 나빠진다. 일반적으로 시료는 마이크로피펫으로 원자화장치에 주입하는데 기기 생산 회사에서 부피별로 제작 판매한다. 마이크로피펫의 끝부분은 일반적으로 polypropylene으로 만들어 졌기 때문에 유기용매(ketones, alcohols, chlorinated hydrocarbon 등)에 의하여 정밀도 및 재현성에 영향을 크게 미치게 된다. 따라서 유기용매에 부식되지 않도록 표면처리가 잘 된 것을 사용해야만 한다.³⁶

(1) Cold Vapor Generation법

이 방법은 Hg등과 같은 몇 가지 금속의 분석법으로 널리 이용되고 있는데 이들 금속은 휘발성이 비교적 큰 까닭에 불꽃법이나 에너지를 이용한 비불꽃법 등으로 중성원자를 만들기가 부적당하다. 따라서, 적당한 시약을 시료에 가하여 화학적 방법으로 중성원자를 만드는데, 원자의 생성효율이 대단히 좋아서 감도가 높다. 예로서 Hg를 분석할 때 원자증기를 만드는 과정을 보면 시료용액에 SnCl₂나 hydroxylamine등과 같은 환원제를 가하여 중성상태의 Hg 원자를 만들고(식9) 공기를 용액에 불어넣어서 Hg 원자증기를 광로에 내보낸다.



Cold Vapor법에서 사용되고 있는 원자화장치는 ppb정도 또는 그 이하의 Hg를 분석할 수 있으므로 현재 환경오염시료의 분석에 널리 이용되고 있다.

한편 Sb, As, Bi, Ge, Sn, Se 및 Te 등과 같이 비교적 휘발성인 수소화물을 잘 형성하는 원소들은 적당한 환원제로 환원을 시켜 금속수소화물을 만든 다음 원자화시키는 hydride generation method가 널리 이용되고 있다. 이 방법 역시 원자화 효율이 불꽃법 등 보다 대단히 높기 때문에 극미량 분석에 유용하다.³⁶

3. 방해영향

AAS에서 각 원자의 흡수스펙트럼은 원소마다 특성적이며 예민하기 때문에 다른 원소의 스펙트럼과는 거의 중첩이 되지 않는다. 따라서 분해능이 좋은 단색화장치를 이용하면 분석하려는 원소의 흡수 피이크를 쉽게 찾아 흡광도를 측정할 수 있으므로 다른 분광법보다는 비교적 방해 영향이 심각하지 않다. 그러나 시료를 고온으로 처리하는 관계로 이러한 특수한 조건에서 일어나는 화학반응은 대단히 복잡하며, 그로 인하여 직접 간접으로 여러 가지의 방해작용이 생길 수 있다. 방해영향은 이론적으로 예측하기 곤란하고 실험적으로 측정하여 조절하여야 한다.

AAS에서 기기 자체에 의한 것 외에 정확도에 영향을 미치는 방해요인을 보면 화학적 방해, 이온화, 매트릭스 및 분광학적 방해등을 들 수 있다. 이러한 방해요인을 적당한 방법으로 제거함으로써 분석의 오차를 줄이고 정확성을 기할 수 있다.

1) 화학적 방해

원자화 과정에서 분석하려는 금속이온이 공존하고 있는 음이온이나, 음이온기를 형성하는 양이온과 반응하여 열적으로 안정한 화합물을 형성함으로써 주어진 온도에서 용이하게 분해를 일으키지 않으므로 중성원자의 생성을 방해하게 된다. 이러한 방해작용을 화학적 방해(chemical interference)라고 하는데 이러한 영향은 비불꽃법보다 불꽃법에서 더욱 심각하게 나타난다. 이러한 방해작용의 제거는 분석하려는 원소보다 방해하는 화학종과 쉽게 그리고 열적으로 안정한 화합물을 형성하는 물질을 과량 가해줌으로써 제거할 수 있으며, 또는 화합물이 충분히 분해될 수 있는 고온의 불꽃을 사용함으로써 가능해 진다.

2) Ionization

시료가 원자화장치에서 열분해될 때 일부의 원자는 높은 열에너지에 의하여 이온을 형성하여 중성원자의 생성을 방해함으로써 그 흡수강도가 감소된다. 이러한 이온화현상은 원자화장치의 온도 및 원소의 이온화에너지에 영향을 받는다.

2500K 이상에서는 이온화현상이 현격히 증가하는데 이러한 이온화작용을 방지하기 위해서는 분석하려는 원소보다 이온화전압이 낮은 원소(Na, K등)를 과량 가하면 이들이 불꽃에서 쉽게 이온화되어 불꽃내의 전자밀도가 증가된다.

3) 분광학적 방해

분광학적 방해(spectral interference) 작용은 시료와 공존하고 있는 여러 가지 화학종이나 불꽃 또는 광원으로 발생하는 스펙트럼으로 인하여 분석원소의 흡수강도에 영향을 미치는 현상을 말한다.

분광학적 방해작용은 다음과 같이 크게 두가지 형태로 구분할 수 있는데⁴¹ 첫째는 시료에 분석원소와 함께 공존하고 있는 원소의 흡수스펙트럼, 또는 광원이나 불꽃에 방출되는 스펙트럼이 분석원소의 분석파장과 분리하기 곤란할 정도로 가깝거나 ($0.1\text{\AA}$ 이하) 겹칠 때 일어난다. 그러나 원자 흡수선은 대단히 예민하기 때문에 이러한 스펙트럼의 겹침으로 생기는 방해는 대단히 드물다. 이러한 방해를 제거하기 위해서는 분해능이 좋은 분광기를 사용하던지 다른 파장의 분석선을 사용하여 흡광도를 측정하면 된다. 방해를 일으키는 예를 들면 Al과 V이 공존하는 시료에서 Al의 제 1분석선(308.15nm)은 V의 흡수선(308.211nm)와 겹치므로 분석에 양의 오차를 준다. 그러나 이 경우는 Al의 제1분석선 대신 309.27nm 의 제 2 분석선을 사용하면 쉽게 피할수 있다. 둘째는 불꽃자체의 연소생성물이나 시료 중에 있는 용질 및 용매등 여러 가지 분자종이 불꽃에서 생성하는 입자들에 의해서 광원으로부터 조사되는 빛을 흡수 또는 산란시키기 때문에 일어나는 현상이다. 특히 이러한 현상을 비특성적 화학종에 의한 방해작용(nonspecific species interference)이라고 한다.

이러한 방해영향들은 이미 설명한 바와 같이 다른 분석파장을 택하거나, 아니면 높은 온도의 불꽃으로 원자화시키든지 또는 표준물질과 시료용액에 과량의 복사선 완충제(radiation buffer)를 가하면 어느 정도 피할 수 있다. 그러나 시료의 조성이 대단히 복잡할 경우는 방해요인을 쉽게 알기가 곤란하기 때문에 다른 방법으로 바탕보정(background correction)이 필요하다.

일반적인 바탕보정은 다음의 세가지 방법에 의한다.³⁶

(1) 두선보정법(two line method)

이 방법은 먼저 분석과장에서 시료의 흡광도를 측정한다. 이 때 측정된 흡광도는 분석원소에 의한 흡광도와 바탕에 의한 흡광도가 함께 얻어진다. ($A_s + A_B = A_{\text{sample}} + A_{\text{background}}$) 다음 분석과장의 전후 $\pm 20\text{nm}$ 범위 이내의 적당한 두과장 (220nm 이하의 과장에서는 $\pm 5\text{nm}$ 이내)에서 바탕의 흡광도(A_B)를 측정하여 이 값을 전체 흡광도로부터 빼면 분석원소자체의 흡광도를 구할 수 있게 된다. 이 방법은 바탕보정장치가 없을 경우 보편적으로 쉽게 이용할 수 있는 장점이 있다.

(2) 연속보정법(continuum method)

이 방법은 deuterium arc lamp(UV 영역), 또는 W-halogen lamp(visible영역) 등과 같은 연속광원을 사용하여 그 빛을 주어진 분석과장에서 Hollow cathode lamp에서 나오는 빛과 교대로 원자화장치에 쏘여줌으로써 시료의 바탕값을 보정하는 방법으로 Double beam 은 물론 single beam spectrometer에서도 이용할 수 있기 때문에 이 장치는 현재 널리 시판되고 있다.

(3) Zeeman 효과 보정법 : ^{36, 42} 지금까지의 바탕보정과 근본적으로 다른 방법인 Zeeman 효과에 의한 보정이 최근에 상당히 큰 관심을 끌고 있다. 원자증기에 의한 방출 또는 흡수복사선에 수킬로 gauss의 자기장을 걸어주면 Zeeman 효과를 나타내어 복사선은 약간의 파장의 차이를 갖는 몇가지 성분으로 나누어지게 된다.

Cd, Hg의 경우 두 개의 성분으로 스펙트럼이 쪼개어지는데 그 하나는 원래의 공명흡수과장과 동일한 파장을 갖는 성분(π line)이고 다른 하나는 공명흡수과장보다 일정한 간격으로 높고 낮은 파장으로 분리되는 성분(σ line)이다. 이 때 π 성분은 걸어준 자기장에 수평인 면에서 편광되고 σ 성분은 수직인 면에서 편광된다. 만약 광원으로부터 방출되는 빛을 회전편광기를 사용하여 원자화장치에 걸어준 자기장에 수평 또는 수직인 평면으로 편광시킨 다음 시료에 교대로 쏘여주면 Zeeman effect에 의하여 수평면으로부터 편광된 광은 분석원소 및 바탕에 의한 흡수 또는 산란을 모두 일으키게 하지만, 수직으로 편광된 광은 단지 바탕에 의한 흡수 또는 산란만을 일으키게 한다. 따라서 수평 및 수직으로 편광된 성분에 의한 빛의 세기를 측정함으로써 바탕값을 보정할 수 있다.

Zeeman 분리는 원자화장치 뿐만 아니라 광원에 강한 자장을 걸어줄 때도 가능하다. 이 방법은 시료 전체의 흡광도와 바탕값을 동시에 측정하여 보정이 가능하며 불꽃법은 물론 전기로법에서 매우 유용하게 이용될 수 있다. 또한 single

beam 및 double beam spectrometer에도 모두 적용이 가능한데 기기장치의 값이 너무 비싼 단점을 가지고 있다.

4) 매트릭스 효과

매트릭스 효과(matrix effect)는 시료의 물리적 특성(점도, 표면장력 및 휘발성 등)에 의하여 생기는 방해작용을 말하며 물리적인 방해(physical interference)라고도 한다. 즉, 같은 농도의 분석원소를 함유하고 있더라도 그 용액의 점도 및 표면장력이 다르면 시료용액을 원자화장치에 분무시킬 때의 흡입량이나 분무되는 방울의 크기를 다르게 함으로써 증성원자의 생성효율에 영향을 미치어 흡광도의 차이를 일으키게 된다. 또는 시료에 공존하고 있는 염등 화학종의 휘발성 차이로 인하여 시료의 증발을 저해하거나 원자화되기 전에 분자상태로 증발시키므로 방해하는 경우도 있다.⁴³ 예를 들면 C_2H_2 -air 불꽃에서 Fe 농도가 크면 Cr과 Mo을 완전히 증발시키지 못했다.⁴⁴ 뿐만 아니라 전기로법에서도 이 같은 방해영향을 크게 받는데 이것은 적당한 첨가제를 가하여 분석원소의 선택적인 휘발이 가능하도록 시료매트릭스의 조성을 바꾸어 주어야 한다. 반면 Cl^- 이 많이 공존하는 시료중에서 As, Zn, Se, Cd 및 Pb 등은 휘발성이 큰 염화물을 형성하므로 원자화되기 전에 염화물 상태로 휘발되기 때문에 원자화효율에 영향을 미치게 된다. 이 경우는 시료매트릭스를 덜 휘발성인 NO_3^- 또는 SO_4^{2-} 매디움으로 바꾸어 주든지, Ni 또는 Fe 등과 같은 전이원소를 가하여 주면 감소된다.⁵⁶ 이 때 가능한 한 표준용액이나 바탕용액의 조성도 시료와 같은 조성이 되도록 만들어 주는 것이 좋다.⁴⁵

최근에는 이러한 매트릭스 효과를 줄이기 위한 방법으로 시료용액을 연속적으로 불꽃에 분산시키는 일반적인 불꽃방법 외에 $50\sim 100\mu l$ 정도의 적은 양의 시료용액을 불꽃에 분산시키는 micro sampling technique이 연구되고 있다.³⁶ 이 방법은 흡입시키는 시료량이 대단히 적기 때문에 매트릭스 효과를 비교적 덜 받는다. 또한 진한 농도의 염 또는 산을 함유한 시료의 경우 버어너 slot가 clogging 되므로 불꽃이 찢어지는 현상 및 버어너의 부식등을 막을 수 있기 때문에 이 같은 시료의 분석에 이용될 수 있을 뿐 아니라 시료량이 대단히 제한되어 매우 유용한 방법이라고 생각된다.

4. 용 용

AAS는 정성분석보다는 정량분석에 주로 이용된다. 실제로 원자흡수스펙트럼이 매우 예민하여 단순하고 감도와 검출한계가 좋기 때문에 시료중 미지원소의 존재 여부를 확인하는 데에는 다른 방법들에 비해서 매우 정확하다. 그러나 광원을 원

소마다 계속 바꾸어 끼어야 하는 등 조작이 번거롭기 때문에 정성분석에는 효율적으로 이용되지 못하고 있다.

AAS에 의한 정량은 다른 분석법과 마찬가지로 주로 표준곡선법(또는 검정곡선법)과 표준물첨가법(standard addition method)에 의한다.

1) 표준곡선법

AAS에서는 비색법과는 달리 일정한 농도에 대응하는 흡광도가 항상 일정하지 않고 측정시의 조건에 따라 달라지기 때문에 시료를 분석할 때마다 시료와 동시에 표준용액의 흡광도를 측정하여 표준곡선을 만드는 것이 좋다. 또한 Beer-Lambert법칙에 따르면 흡광도와 농도는 직선관계로 비례해야 하지만 흔히 직선에서 벗어남을 알수 있다.

실험적으로 얻은 표준곡선은 이상적으로는 흡광도가 농도에 직선적으로 비례한다. 그러나 농도가 진행되면 흡광도가 농도만큼 증가되지 않는다. 원인으로서는 자체흡수를 들 수 있다. 이온화 방해받을 경우로 농도가 진행되면 전체적으로 이온화도가 적어져 흡광도가 농도에 비하여 커진다.³⁶ 따라서 표준시료용액의 매트릭스를 시료와 같거나 비슷하게 만들어야 하며, 또한 시료의 농도는 가능한 한 표준곡선에서 직선에 가까운 농도의 범위내에 들어 가도록 조절하는 것이 좋다.

2) 표준물 첨가법

표준곡선법에서는 표준시료용액의 매트릭스가 시료용액과 같거나 비슷하게 만들어야 하는 어려움이 있다. 따라서 AAS에서는 표준물 첨가법이 많이 이용된다. 두 개 이상의 시료용액의 일정 분취액을 메스플라스크에 옮겨 넣고 그 중 하나는 눈금까지 물히고 나머지는 일정량의 분석성분을 가한 다음 물린다. 각각의 흡광도를 측정하여 농도와 직선관계가 얻어지면 다음 식으로 계산한다.

$$C_x = C_s \cdot \frac{A_x}{(A_T - A_x)}$$

식에서 C_x 는 시료용액의 희석농도, C_s 는 첨가한 표준물만의 농도, A_x 와 A_T 은 희석시료용액과 표준물 첨가용액의 흡광도이다.

표준물첨가법에 의한 검량선에서 직선이 흡광도가 zero인 횡축과 만나는 점(C_1)까지의 값이 시료의 농도가 된다. 바탕보정이 제대로 안되면 그 오차가 결과에 직접 포함되므로 바탕보정을 철저히 해야 하는 난점이 있기도 하다.

분석을 하기 위해선 감도 및 검출한계, 시료농도, 스펙트럼 방해등을 고려하여 적당한 분석과장을 선택해야 한다. 가능한 한 세기가 가장 큰 공명선을 사용해야

하지만 농도가 진할 때나 다른 스펙트럼의 방해가 있으면 다른 분석과장을 택해야 한다.

시료용액의 농도가 흡광도와 농도의 직선범위에서 벗어나는 경우는 전처리를 해야 한다. 농도가 클 때에는 묽혀야 되는데 묽힘오차를 가능한 한 적게 해야 한다. 적당한 농도범위보다 적어서 검출이 안되던가 검출한계 근처 농도일 때는 농축을 해야 한다.

AAS분석은 수용액에서 분석하는 것이 일반적이나 시료에 따라서는 유기용매를 사용하기도 한다. 농축을 하기 위하여 용매추출을 할 경우 추출액을 그대로 사용한다. 또 석유제품등과 같이 물에 녹지 않던가 점도 및 표면장력을 같게 맞추어 주기 곤란할 때도 유기용매를 사용한다. 이 때 용매는 버어너의 플라스틱의 모세관이나 분무상자를 녹이거나 연질화시켜서는 안된다. MIBK는 실제 PVC를 연질화시킨다. 이를 막기 위하여 경질 polyethylene 이나 propylene, polytetrafluoroethylene등으로 안개화장치 재료를 사용한다.

3) 감도 및 검출한계

AAS에서 감도(sensitivity)는 원자증기에 쏘여주는 입사선의 1%(흡광도로 0.0044에 해당함)를 흡수하는 시료의 농도($\mu\text{l/ml}$ 또는 ppm)로 정의한다. 한편 검출한계(detection limit)는 흡수 signal과 noise의 비(S/N)가 2가 되는 시료의 농도를 의미한다.

4) 장단점

AAS를 화학분석에 이용함에 있어서 중요한 특징은 선택성이 좋고 감도가 높으며, 반복하는 유사분석을 단시간에 행할 수 있고, 방해물질이 비교적 적어서 시료를 용해시킨 후 다른 화학적인 처리없이 직접 측정이 가능할 뿐만 아니라 때로는 시료를 파괴하지 않고 분석할 수 있다는 점이다.

AAS로 분석이 가능한 원소는 알칼리금속 및 알칼리토금속등 약 65종의 원소인데 검출한계는 불꽃형의 원자화장치에서는 $10^{-6} \sim 10^{-9}\text{g}$, 비불꽃형에서는 $10^{-10} \sim 10^{-12}\text{g}$ 정도이며 오차 범위가 1% 이내이므로 다른 흡광분석법이나 질량분석법등보다 정확성이 있으며 적용범위가 대단히 넓다.

이와 같이 AAS를 이용하여 각종 각색의 시료중에 있는 극미량 성분의 분석이 가능해짐으로써 농학, 미생물학, 의학, 식품화학, 금속공학, 석유화학 등 여러 가지 분야에서 응용되고 있으며 특히 순수한 물질의 순도결정 생체시료의 분석 및 공기가 음식물등에 함유된 유해금속의 오염도를 측정함으로써 환경위생학, 범죄

수사 및 재판화학에도 이용도가 크다. 물론 산업보건 분야에서도 그 적용성이 매우 높은 기기이다.

이상과 같은 이점과 응용면을 가지고 있는 반면 피할 수 없는 결점은 광원을 보유하고 있는 원소만이 분석이 가능하며 비금속등은 분석이 거의 불가능하다. 또한 원소를 바꾸어서 분석할 때는 그 때마다 광원을 갈아 끼워야 하기 때문에 여러 가지 원소를 동시에 분석할 수 없다는 점등이다. 그러나 산업보건 분야에서는 Pb, Cd, Mn, Hg, Cr, Zn, As 등 상대적으로 관심 원소들이 제한되어 있으므로 AAS의 이러한 제한점이 큰 문제가 되지 않는다. 여기서는 산업보건 무기분석 분야의 각 항목별 분석법에 대해서 정리하였다.

참 고 문 헌

1. A. Walsh, Spectrochim. Acta, 7, 108 (1965)
2. G. D. Christian and F. J. Feldman, "Atomic Absorption Spectroscopy", Wiley-Interscience, John Wiley & Sons Inc., New York, 1968
3. B. J. Russell, J. P. Shelton and A. Walsh, Spectrochim. Acta, 16, 249(1960)
4. W. G. Jones and A. Walsh, Spectrochim. Acta, 16, 249(1960)
5. H. Massmann, Z. Instrumentenk., 71, 225(1963).
6. L. R. P. Butler and A. Strasheim, Spectrochim. Acta, 21, 1207 (1965).
7. J. S. Carwright, C. Sebens and W. Slavin, Atomic Absorption Newsletter, 5, (1996).
8. A. Walsh et. al., Atomic Absorption Newsletter, 4, 255(1965).
9. A. Walsh et al., ibid., 4, 180(1965).
10. W. Slavin et al., ibid., 4, 335(1965)
11. R. J. Atrinson, G. D. Chapman and L., Krause, J. Opt. Soc. Amer., 55, 1269(1965)
12. J. W. Robinson, Develop. Appl, Spectry., 4. 455
13. O. E. Clinton, Spectrochim. Acta, 16, 985(1960)
14. J. B. Willis, Anal. Chem., 33, 556(1961).

15. L. S. Nelson and N. A. Kuebler, *Spectrochim. Acta.* 19, 781 (1963)
16. A. S. King, *Astrophys. J.*, 27, 353(1908).
17. G. L. Vidale, Space Science Lab., Aerospace Operation, General Electric T. I. S. Rep. R60SD 330(1960)
18. H. M. Donega and T. E. Burgess, *Anal. Chim.*, 42, 1521 (1976).
19. U. Ulfuarson, *Acta Chem. Scand.*, 21, 641(1975)
20. W. R. Match and W. L. Ott, *Anal. Chem.*, 40, 2085(1968)
21. W. J. Price, *Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption*, Heyden & son Ltd., London NW42, JQ, UK, 1979
22. H. Koizumi and K. Yasuda. *Spectrochim. Acta. Pant B.* 31, 236(1976)
23. C. A. Baker and F. W. J. Garton, UK At. Energy Auth. Rep. R3490, HM Stationery Office, London(1961)
24. R. D. Ediger, *At. Absorpt. Newsl.*, 14, 127(1975)
25. C. W. Fuller, *Electrothermal Atomization for Atomic Absorption Spectrometry*, Chemical Society, London, 1987
26. W. J. Price, *Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption*, Heyden & Son Ltd., London NW42JQ, UK, 1979
27. Jon Co. Van Loon, *Analytical Atomic Absorption Spectroscopy*, 2nd Ed., Academic Press, N. Y., 1988

III. 무기분석 각론

1. 납(Lead)

납은 원소기호 Pb, 원자번호 82, 원자량 207.2, 비중 11.35(20 ℃), 녹는점 327.5 ℃, 끓는점 1740 ℃인, 푸른빛 도는 흰색의 금속이다. 550-600 ℃에서 증기가 형성되고, 공기 중의 산소와 결합하여 산화납의 흠이 된다. 작업장에 흠(fume)과 더스트(dust)의 형태로 존재한다. 근로자가 납에 노출되는 작업장은 납광산, 납제련, 납 용접, 축전기 제조, 자동차 제조, 크리스탈 유리 제조, 페인트·안료 제조 및 그 분무 도장, 도자기 제조, 인쇄, 선박 해체, 합금 등이 대표적이다. 납의 독성은 주로 조혈계, 신경계, 신장에 나타난다.

납은 호흡기, 소화기, 피부, 태반 등을 통해 체내에 들어오게 된다. 소화기를 통해 들어온 납은 대부분이 흡수되지 않은채 대변으로 배설되고, 호흡기를 통해 들어온 납은 그 35-50% 가량이 흡수된다. 피부 흡수는 무기 납의 경우 거의 무시할 수 있을 정도이나, 유기 납의 경우 문제시된다. pH와 공존하는 음이온이 흡수에 영향을 미친다. 흡수된 납의 76 %는 소변으로, 16%는 대변으로, 8% 이하가 털, 손톱, 발톱, 땀, 젖 등으로 배설되며, 체내에 축적되는 납은 90% 이상이 뼈에 축적된다. 체내의 납 총량이 동일하다 해도 혈액이 산성일 때는 혈액 속에 유리되어 각 장기에 작용하여 중독증상을 나타내고, 혈액이 염기성으로 기울면 3가의 인산염이 되어 뼈의 석회질 부분에 침착하여 중독증상을 나타내지 않을 수 있다. 직업적으로 노출되지 않는 개인도 음식물, 식수, 공기 등을 통해 1일에 100-350 μg 를 섭취하는 것으로 알려져 있다. 체내의 납 농도는 남자가 거의 모든 조직에서 여자보다 높다.

전혈중 납 농도는 최근의 폭로를 나타내는 지표이다. 연조직(soft tissue) 중의 농도를 반영하며, 생리적 영향을 반영하지는 못한다. 전혈 중 납의 90%는 적혈구에 결합되어 있다. 납을 흡입하면 전혈 중 납 농도는 즉시 상승한다.

직업적으로 납에 노출되지 않는 정상인의 전혈 중 납 농도는 평균 4-22 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 로 알려져 있다. ACGIH BEI는 50 $\mu\text{g}/\text{dL}$, 독일 BAT는 30 $\mu\text{g}/\text{dL}$ (여자), 70 $\mu\text{g}/\text{dL}$ (남자), WHO action level은 40 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 이며, 우리나라 근로자건강진단실시기준의 관리한계는 60 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 이상이다.

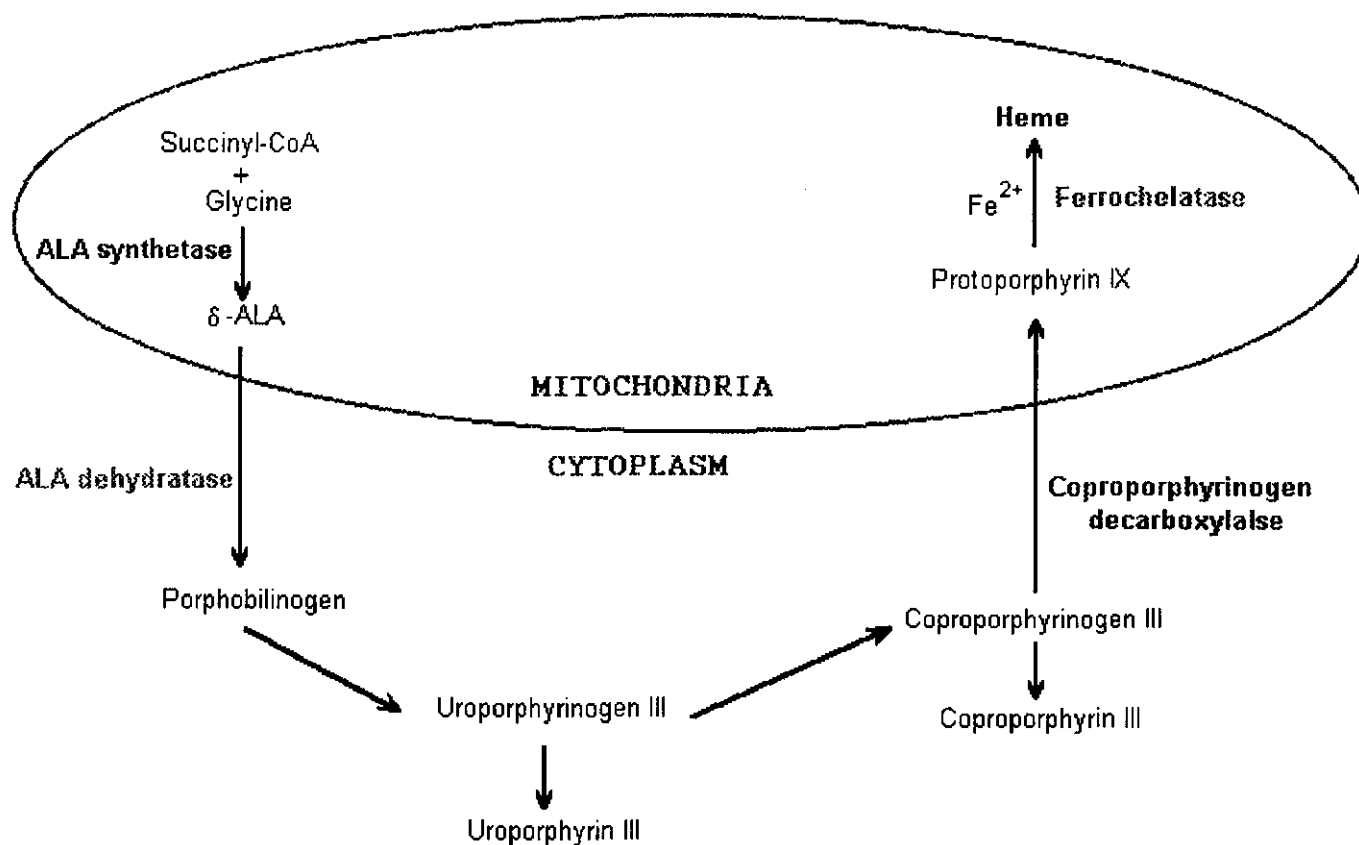


Fig. 1. Biosynthesis of Heme

1) 전혈중 납

(1) 분석원리

전혈 중 납 농도는 원자흡광분석기(atomic absorption spectrometer: AAS)로 분석한다. 혈액은 대단히 복잡한 매질이므로 AAS의 바탕보정이 필요할 뿐 아니라, 표준물첨가법(standard additon method)에 의해 검량선을 작성한다.

(2) 기구 및 시약

사용하는 모든 초자기구는 20% 질산에 4시간 이상 담가두었다가 탈이온수로 7회 행구어 사용한다. 원자흡광분석기는 GTA-96 graphite tube atomizer가 장착된 D₂ 램프 보정방식의 AAS를 사용한다. 흑연튜브는 pyrolytic coated partitioned tube를 사용한다.

탈이온수는 초순수제조장치로 제조한 비저항 18 MΩ의 것을 사용하거나 AAS용 탈이온수를 구입하여 사용하며, Triton X-100, (NH₄)₂HPO₄, 1000 ppm Pb 표준용액과 HNO₃는 특급제품을 사용한다.

(3) 시료채취 방법 및 전처리

근로자의 정맥혈은 헤파린 또는 EDTA 처리된 튜브와 1회용 주사기를 이용하여 채취한다. 채취시간은 작업 전, 작업 중, 작업 후 아무 때나 상관없다. 오염되지 않도록 주의해야 한다. 밀봉하여 -20 °C에서 보관하면 장기간 보관이 가능하다. 전혈은 0.2% Triton X-100 / 0.2% (NH₄)₂HPO₄ 용액에 20배로 희석되어 AAS에 주입된다. 전혈은 3분 이상 잘 섞어준 다음 취하여 희석한다. 표준물첨가법(standard additon method)에 의해 검량선을 작성한다.

(4) 기기조건

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

표. 전혈 중 납 분석을 위한 원자흡광분석기 흑연로 조건

Step No.	Temp(℃)	Time(sec)	Gas flow(ℓ /min)	
1	85	5	3	
2	95	40	3	
3	120	20	3	
4	250	8	3	
5	450	7	3	
6	600	10	3	
	7	600	1	0
8	2200	1	0	read
9	2200	2	0	read
10	2300	2	3	
11	2700	3	3	

분석파장은 283.3 nm, 램프 전류는 5 mA, 슬릿 나비는 0.5 nm, 슬릿 높이는 Normal였으며, D₂ 램프에 의한 바탕보정을 한다. 자동시료주입기 또는 메뉴얼로 15 - 25 μ l의 시료를 흑연튜브에 주입한다.

(5) 검량선 작성 및 결과 처리

시판되는 1000 ppm Pb 표준용액을 탈이온수로 단계적으로 희석하여 Pb 10, 30, 50, 70 μ g/dl 표준용액을 만든다. 0.2% Triton X-100 / 0.2% (NH₄)₂HPO₄ 용액 1.8 ml에 Pb 표준용액 0.1 ml, 정상인 전혈 0.1 ml를 가하여 잘 섞어 표준물 첨가법에 의한 검량선 작성용 시료로 한다. 0.2% Triton X-100 / 0.2% (NH₄)₂HPO₄ 용액 1.8 ml에 탈이온수 0.1 ml, 시료 전혈 0.1 ml를 가하여 잘 섞어 분석용 검체로 한다.

데이터를 해석할 때는 꾸준한 경시적 관찰이 중요하며, 음식물 및 기타 환경에서의 노출, 폭로기간, 적혈구 량, 약물 복용 여부(CaNa₂EDTA, d-penicillamine 등의 킬레이트제) 등을 고려해야 한다.

검량선 및 검출한계 산출식은 부록을 참조하기 바란다.

2) 소변 중 납 (Pb in urine)

소변 중 납은 최근의 흡수를 나타내는 지표이다. 폭로 10일 후에 농도가 상승한다. 직업적으로 노출되지 않는 건강인의 소변 중 납 농도는 10 - 50 $\mu\text{g}/\ell$ 로 알려져있다. ACGIH BEI는 150 $\mu\text{g}/\text{g}$ creatinine이다.

소변의 채취는 혈액 채취에 비해 noninvasive sampling이라는 장점이 있다. 채취시간은 작업 전, 작업 중, 작업 후 아무 때나 상관없다. 오염에 주의해야 할 뿐 아니라 용기나 침전액의 흡착으로 인한 손실에도 주의해야 한다.

개체간, 개체내 변동에 대한 데이터 해석 시 고려 사항은 1) 음식물 및 기타 환경에서의 노출, 2) 수분 섭취량, 3) 신장기능, 4) 약물 복용 여부(CaNa_2EDTA , d -penicillamine 등의 킬레이트제) 등이다.

(1) M.Hirata et.al, *Int.Arch.Occup.envIRON.Health*, 68, 58-63, 1995

황산과 질산의 혼합액으로 회화시키고 그 잔액의 pH를 3.5로 조절한 다음 APDC (ammonium pyrrolidine dithiocarbamate)로 킬레이트를 생성한다. MIBK (methyl isobutyl ketone)로 추출하여 불꽃 원자흡광분석기로 분석한다.

(2) K.S.Subramanian, *Anal.Chem*, 55, 1064-1067, 1983

소변 2.5 ml를 5-ml 파이렉스 유리 용량플라스크에 취하고 10% NH_4NO_3 용액 250 $\mu\ell$ 와 10% HNO_3 500 $\mu\ell$ 를 가한다. 탈이온수로 표선 5 ml 를 맞추고 마개를 하여 20초 동안 와류혼합기(vortex mixer)로 세게 흔든다. 이 용액을 10 $\mu\ell$ 취하여 GFAAS에 도입한다. Urine Control (Fisher # 2934-80, Level 1)에 Pb를 첨가하여 검량선을 작성하였다. 기기조건은 다음과 같다.

Lamp current 7.0 mA, Wavelength 283.3 nm, Slit 0.7 nm, Nitrogen flow 300 ml/min (no gas flow during the atomization cycle), Integration time 5.0 sec

	Temp. ($^{\circ}\text{C}$)	Time (ramp/hold)
Drying step	120	30/30
Ashing step	500	10/40
Atomization step	2300	1/3
Cleaning step	2700	1/3

(3) F.Arai et.al, *Ind.Health*, 32, 67-78, 1994

소변시료 5 ml 를 새지않는 테플론용기에 취하고 농결산 2.5 ml를 가한후 마개를 하여 130 °C hot-air-circulating desiccator에 90 분간 둔다. 용기를 꺼내어 4 °C로 유지되는 냉방에서 식힌다. 내용물을 탈이온수로 씻어 파이렉스마개가 달린 파이렉스 튜브에 옮기고 탈이온수 적당량을 가해 10 ml로 한다. 이것을 비불꽃법 AAS용 시료로 한다.

3) 혈장중 δ -aminolevulinic acid(δ -ALA)

납 폭로에 가장 예민한 지표로서 혈중 납 농도가 40-50ug/dL이면 저해가 포화 된다. screening test로 유효하며 혈중 납 농도가 높을 수록 혈장중 ALA농도는 떨어진다. background level은 60-20 IU (70-80% for full activity)

(1) 분석 원리

납은 헤모글로빈의 전구체인 헴 합성과 관련된 효소의 활성을 억제한다. delta aminolevulinic acid dehydratase의 활성이 납에 의해 억제되면, 혈액중에 delta aminolevulinic acid가 축적되며 소변중 배설량도 많아 지게 된다.

(2) 시료 채취

시료 채취시는 Zn의 오염을 피해야 하며 항응고제로 킬레이트제(EDTA)는 피한다. 채취후 냉장 보관하여 실험실로 운반하며 가능한 빨리 분석한다. 4°C에서 24시간이 한계이다.

(3) 기구 및 시약

용량플라스크 100ml 6개, 10ml 6개

메스플라스크 100ml

피펫 10-100 μ l, 200-1000 μ l, 500-2500 μ l

원심분리용 폴리프로필렌 용기 1ml

마개달린 시험관 10ml

갈색병 500ml

δ -Aminolevulinic acid(δ -ALA)

Trichloroacetic acid(TCA)

탈이온수
아세틸아세톤
에탄올
포름알데히드
메탄올(HPLC급)
Sodium acetate
초산

(4) 시료 채취 방법 및 전처리

가. 표준용액 조제

- ① δ -Aminolevulinic acid(δ -ALA) 10mg을 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 100ppm의 표준용액을 만든다.
- ② 100ppm의 표준용액을 20ml 취하여 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 20ppm의 표준용액을 만든다. 이를 표준용액 원액으로 한다.
- ③ 표준용액 원액을 2.5, 5.0, 7.5ml를 취하여 10ml 용량플라스크에서 탈이온수로 희석하여 δ -ALA 5, 10, 15ppm의 검량선용 표준용액을 제조한다.

나. 반응시약 조제

- ① Trichloroacetic acid 20ml를 취하여 100ml 용량플라스크에서 탈이온수로 희석하여 20% 용액을 만든다.
- ② Sodium acetate 16.41g을 10ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 2M 표준용액을 만든다. 초산 6.01g(5.72ml)을 10ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 2M 표준용액을 만든다. 2M Sodium acetate 용액 1.25ml와 2M 초산용액 8.25ml를 취하여 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 pH 3.8의 0.2M 초산완충용액을 만든다.
- ③ 아세틸아세톤 30ml, 에탄올 20ml, 탈이온수 108ml를 취하여 갈색병에 넣고 층이 갈라지지않을 때까지 잘 섞는다. 이 용액을 시약 A로 한다.
- ④ 포름알데히드 8.5g을 취하여 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 8.5%의 포름알데히드 수용액을 만든다. 이 용액을 시약 B로 한다.

다. 시료 및 표준용액 전처리

- ① 혈장 100 μ l를 취하여 원심분리용 폴리프로필렌용기에 넣고 50 μ l의 20% TCA 용액을 가한 후 회전혼합기에서 혼합한다. 내용물을 원심분리기에서

15,000rpm의 속도로 10분간 원심분리한다.

② 검량선용 표준용액 각 10 μ l를 취하여 시험관에 옮기고 탈이온수 240 μ l, 0.2M 초산완충용액 250 μ l, 시약 A 1.25ml, 시약 B 250 μ l를 가한 후 잘 섞는다.

③ 원심분리후 침전이 분리된 용액중 10 μ l를 취하여 시험관에 옮기고 탈이온수 240 μ l, 0.2M 초산완충용액 250 μ l, 시약 A 1.25ml, 시약 B 250 μ l를 가한 후 잘 섞는다.

④ 100℃에서 15분간 반응시킨 후 식히고 나서 HPLC용 검액으로 한다.

(5) 기기조건

- HPLC 조건

1) 컬럼 : C18(5 μ m), 15cm x 2.1mm

2) 이동상

탈이온수 : 메탄올 : 초산 = 50:50:0.1(v/v/v)

3) 유속 :0.3ml/min

4) 검출기 : 형광검출기(373nm/463nm ex/em)

(6) 분석 결과 예시

부록 참조

4) 혈중P-5-N(pyrimidine 5'-nucleotidase) activity

(1) 정상농도 및 생물학적 기준농도

- 정상농도 : $16.3 \pm 5.15(8.0-27.6) \mu\text{mol/hr/g Hb}$
- 남 폭로 근로자 : $7.9 \pm 2.3(5.1-12.5) \mu\text{mol/hr/g Hb}$

(2) 분석 원리

- 남 노출시 체내의 P-5-N 활성이 저하함

$$P5N\text{활성} = \frac{\text{uridine농도}(\text{mmol/l})}{\text{Hb}(\text{g/dl})} \times \frac{1\text{l}}{10\text{dl}} \times \frac{1000\mu\text{mol}}{1\text{mmol}}$$

(3) 기구 및 시약

용량플라스크 100ml 5개, 25ml 1개, 10ml 5개

메스실린더 100ml

피펫 200-1000, 500-2500 μl , 10ml

시험관 10ml

Uridine(244.2g/mol)

Concanavalin A

MgCl₂(95.23g/mol)

Uridine monophosphate 2Na

Tris(hydroxymethyl)aminomethane hydrochloride

염산(38.0%)

메탄올(HPLC급)

KH₂PO₄(136.09g/mol)

1-Decanesulphonic acid(244.3g/mol)

탈이온수

(4) 시료 채취 방법 및 전처리

가. 시료 채취

- ① 해파린 처리가 된 시험관에 혈액 시료를 1ml 취한다.
- ② 시료는 채취후 1주일내에 분석을 끝낸다.

나. 표준용액 조제

- ① Uridine 24.42mg을 25ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워

4mM의 uridine 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다.

② 표준용액 원액을 2, 4, 6, 8ml 취하여 10ml 용량플라스크에서 희석하여 uridine 0.8, 1.6, 2.4, 3.2mM의 검량선용 표준용액을 제조한다. 탈이온수를 blank로 한다.

다. 반응시약 조제

① Concanavalin A(ConA) 400mg을 취하여 비이커에 옮기고 탈이온수 20ml에 녹여 2% ConA 수용액을 만든다(시료 100건 분석에 필요한 양).

② $MgCl_2$ 952.3mg을 취하여 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 0.1M 수용액을 만든다.

③ 가. Tris-HCl 1.211g을 취하여 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 0.1M Tris-HCl수용액을 만든다.

나. 염산 8.3ml를 취하여 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 0.1M 염산을 만든다.

다. 0.1M Tris-HCl 수용액 50ml와 40.3ml의 0.1M 염산을 100ml 용량플라스크에 취해 넣고 탈이온수로 표선을 채워 50mM Tris-HCl 완충용액을 만든다.

라. UMP-2Na 148mg을 100ml 용량플라스크에 취하여 넣고 tris-HCl완충용액으로 표선을 채워 UMP 시약을 만든다(시료 100건 분석에 필요한 양). 이 시약은 4℃에서 보관한다.

④ 가. KH_2PO_4 0.68g을 탈이온수 1L에 녹여 5mM KH_2PO_4 수용액을 만든다.

나. 메탄올 50ml와 5mM KH_2PO_4 수용액 950ml를 혼합하고 여기에 1-decanesulphonic acid 488.6mg을 가한 후 잘 섞어 0.2mM 1-decanesulphonic acid의 5% MeOH/5mM KH_2PO_4 완충용액을 만든다. 0.45 μ m 멤브레인필터에서 여과한 후 탈기하여 HPLC용 이동상으로 사용한다.

라. 시료 및 표준용액 전처리

① 시료를 미리 3분간 잘 섞어준 후 시료나 표준용액 200 μ l를 취하여 시험관에 넣고 탈이온수 400 μ l와 ConA 수용액 200 μ l를 가하여 섞는다.

② 0.1M $MgCl_2$ 수용액 200 μ l, UMP 시약 1000 μ l를 가하고 잘 섞은 후 37℃에서 1시간 반응시킨다.

③ 시험관을 끓는 물에 2분간 담그어 반응을 종결시킨 후 냉각시킨다.

④ 시험관을 격렬히 흔들어 내용물을 잘 섞은 후 3000rpm에서 5분간 원심분리하고 얻은 수층을 HPLC용 검액으로 한다.

(5) 기기조건

- HPLC 조건

1) 컬럼 : C18(5 μ m), 15cm x 2.1mm

2) 이동상

0.2mM 1-Decanesulphonic acid in 5% MeOH/5mM KH₂PO₄

3) 유속 : 0.3ml/min

4) 검출기 : UV 260nm

(6) 분석 결과 예시

부록 참조

2. 카드뮴(Cadmium)

카드뮴은 원소기호 Cd, 원자번호 48, 원자량 112.4, 비중 8.642, 녹는점 320.9℃, 끓는점 765℃인, 푸른빛 도는 흰색의 금속이다. 같은 2B족 원소인 아연과 밀접한 관계가 있어 자연계에서는 언제나 아연과 함께 존재한다. 공기 중의 산소와 결합하여 황갈색의 산화카드뮴 흠이 된다. 카드뮴은 부식에 대한 저항이 크기 때문에 다른 금속의 코팅에 많이 쓰이며, 니켈-카드뮴 축전지, 합금에 이용된다. 여러가지 카드뮴 화합물이 색소, 플라스틱 안정제, 반도체에 사용된다. 급성중독의 경우 기도 및 폐에 대한 자극이 강하고, 만성중독의 경우는 신장장애와 골격계 장애가 대표적이다. 공해질환으로서 이타이 이타이 병을 일으킨 사건은 유명하다.

카드뮴은 호흡기와 소화기를 통해 체내에 들어오게 된다. 작업장에서는 호흡기가 에어로졸, 더스트, 흠의 주된 흡수경로이다. 흡입된 카드뮴의 0.1-50% 흡수되는데, 흡수정도는 카드뮴화합물의 입자크기와 용해도에 좌우된다. 소화기를 통해 들어온 카드뮴은 건강한 사람의 경우 3-7%가 흡수되나, 칼슘, 철, 또는 단백질이 부족한 경우 20%까지 흡수율이 높아진다. 카드뮴의 생물학적 반감기는 10-30년으로 보고되고 있다. 배설은 주로 소변을 통해 이루어진다. 하루 배설량은 체내 총량의 0.01-0.02%에 불과하다. 조직과 혈장 중의 카드뮴은 저분자단백질 메탈로치오네인(metallothionein)에 결합되어있다. 카드뮴과 결합할 메탈로치오네인이 충분하지 못하면 카드뮴의 독성이 나타난다고 생각된다. 혈액 중의 카드뮴은 주로 적혈구에 존재한다. 저폭로시 체내 카드뮴의 40-80%는 간과 신장에 축적되고 20%가 근육에 축적된다. 폭로가 증가하면 신장의 카드뮴은 감소하고 간의 카드뮴은 증가한다. 직업적으로 노출되지 않는 개인도 음식물, 특히 해산물을 통해 카드뮴에 폭로될 수 있다. 흡연도 주요한 비직업적 폭로경로이다.

전혈중 카드뮴 농도는 최근의 폭로를 나타내는 지표이다. 직업적으로 카드뮴에 노출되지 않는 정상인의 전혈 중 카드뮴 농도는 평균 0.047-4.5 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 로 알려져 있다. ACGIH BEI는 10 $\mu\text{g}/\text{dl}$, 독일 BAT는 15 $\mu\text{g}/\text{dl}$, WHO action level은 0.5 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 이며, 우리나라 근로자건강진단실시기준의 관리한계는 3 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 이상이다.

1) 전혈중 카드뮴

(1) 분석원리

전혈 중 카드뮴 농도는 흑연로가 부착된 원자흡광분석기(atomic absorption spectrometer: AAS)로 분석한다. 혈액은 대단히 복잡한 매질이므로 AAS의 바탕 보정이 필요할 뿐 아니라, 표준물첨가법(standard additon method)에 의해 검량선을 작성하여야 한다.

(2) 기구 및 시약

사용하는 모든 초자기구는 20% 질산에 4시간 이상 담가두었다가 탈이온수로 7회 행구어 사용한다. 원자흡광분석기는 graphite tube atomizer가 장착된 D₂ 램프 보정방식의 AAS를 사용한다. 흑연튜브는 pyrolytic coated partitioned tube를 사용한다.

탈이온수는 초순수제조장치로 제조한 비저항 18 MΩ의 것을 사용하거나 AAS용 초순수를 구입하여 사용한다. Triton X-100, (NH₄)₂HPO₄, 1000 ppm Cd 표준용액과 HNO₃는 특급 제품을 사용한다.

(3) 시료채취 방법 및 전처리

근로자의 정맥혈은 헤파린 또는 EDTA 처리된 튜브와 1회용 주사기를 이용하여 채취한다. 채취시간은 작업 전, 작업 중, 작업 후 아무 때나 상관없다. 오염되지 않도록 주의해야 한다. 밀봉하여 -20 ℃에서 보관하면 장기간 보관이 가능하다. 전혈은 0.2% Triton X-100 / 0.2% (NH₄)₂HPO₄ 용액에 20배로 희석되어 AAS에 주입된다. 전혈은 3분 이상 잘 섞어준 다음 취하여 희석한다. 표준물첨가법(standard additon method)에 의해 검량선을 작성한다.

(4) 기기조건

흑연로 조건은 표와 같다.

표. 전혈 중 카드뮴 분석을 위한 원자흡광분석기 흑연로 조건

Step No.	Temp(℃)	Time(sec)	Gas flow(ℓ/min)
1	85	5	3
2	110	20	3
3	130	10	3
4	600	10	3
5	600	30	3
6	600	1	0
7	2000	0.7	0
8	2000	3	0 read
9	2200	2	3
10	2500	3	3

분석파장은 228.8 nm, 램프 전류는 4 mA, 슬릿 나비는 0.5 nm, 슬릿 높이는 Normal, D₂ 램프에 의한 바탕보정을 한다. 자동시료주입기 또는 메뉴얼로 15 - 20 μ ℓ의 시료를 흑연튜브에 주입한다.

(5) 검량선 작성 및 결과 처리

시판되는 1000 ppm Cd 표준용액을 탈이온수로 단계적으로 희석하여 Cd 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 μ g/dℓ 표준용액을 만든다. 0.2% Triton X-100 / 0.2% (NH₄)₂HPO₄ 용액 1.8 ml에 Cd 표준용액 0.1 ml, 정상인 전혈 0.1 ml를 가하여 잘 섞어 표준물 첨가법에 의한 검량선 작성용 시료로 한다. 0.2% Triton X-100 / 0.2% (NH₄)₂HPO₄ 용액 1.8 ml에 탈이온수 0.1 ml, 시료 전혈 0.1 ml를 가하여 잘 섞어 분석용 검체로 한다.

데이터를 해석할 때는 음식물 및 흡연을 고려해야 한다.

검량선 및 검출한계 산출식은 부록을 참조하기 바란다.

2) 소변 중 카드뮴 (Cd in urine)

배설 반감기가 길기 때문에 소변 채취시간은 중요하지 않지만 오염에 주의해야 한다. 작업장 밖에서, 산세척된 플라스틱병이나 유리병에 받아야 하며, 색깔 있는 플라스틱이나 고무는 피해야 한다.

소변 중의 카드뮴 농도는 만성 카드뮴 폭로를 반영한다. 직업적으로 폭로되지 않는 건강인의 소변 중 카드뮴 농도는 평균 $0.5-1.0 \mu\text{g}/\ell$ 으로 알려져있으며, 연령, 흡연, 공해 환경의 영향을 받는다. 대부분의 근로자를 신장장해로부터 보호하기 위해 채택된 ACGIH BEI는 $10 \mu\text{g}/\text{g creatinine}$ 이다. 소변 중 카드뮴 $5 \mu\text{g}/\text{g creatinine}$ 이상이라면 장기간 폭로 또는 최근의 고폭로 결과일 수 있다. 독일 BAT는 $15 \mu\text{g}/\text{g creatinine}$, WHO action level은 $5 \mu\text{g}/\text{g creatinine}$ 이다.

(1) R.Fraile et.al, *Fresenius.J.Anal.Chem*, **343**, 319-323, 1992

소변시료는 1% v/v HNO_3 에 보존한다. 4-ml 플라스틱 튜브에서 0.05% w/v Triton X-100로 9+1로 희석한다. 검량선 작성용 표준용액은 1% v/v HNO_3 - 0.05% w/v Triton X-100 용액으로 $0.5-4 \mu\text{g}/\ell$ 범위로 매일 신선하게 준비한다. 기기조건은 다음과 같다.

=====

Wavelength 228.8 nm, Spectral bandwidth 0.5 nm, Lamp current 5.0 mA, sample volume 20 $\mu\ell$, Integration time 5 sec, Calibration mode Peak area.

Parameter	Step											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Temp. (°C)	90	120	200	425	425	425	1500	1500	2800	2800	40	40
Time (sec)	5	5	5	5	30	2	1.5	5	1	2	13	2
Argon (ml/min)		3	3	3	3	3	0	0	0	3	3	3

=====

(2) K.S.Subramanian, *Anal.Chem*, **55**, 1064-1067, 1983

소변 2.5 ml 물 5-ml 파이렉스 유리 용량플라스크에 취하고 10% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 용액 100 $\mu\ell$ 와 10% HNO_3 100 $\mu\ell$ 를 가한다. 탈이온수로 표선 5 ml 를 맞추고 마개를 하여 20초 동안 와류혼합기(vortex mixer)로 세게 흔든다. 이 용액을 10

μl 취하여 GFAAS에 도입한다. 검량선 작성용 표준용액은 0.2% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ - 0.2% HNO_3 으로. 매일 신선하게 준비한다. 기기조건은 다음과 같다.

=====

Lamp current 6.0 mA, Wavelength 228.8 nm, Slit 0.7 nm, Nitrogen flow 300 ml/min (no gas flow during the atomization cycle), Integration time 5.0 sec

	Temp. ($^{\circ}\text{C}$)	Time (ramp/hold)
Drying step	120	30/20
Ashing step	500	10/30
Atomization step	1500	1/3
Cleaning step	2700	1/3

=====

(3) 일본 마쓰시다 공장 분석실 매뉴얼

가. 시약

2% PdCl_2 용액; PdCl_2 1 g을 HCl 10 ml 에 녹이고 탈이온수로 희석하여 50 ml로 한다.

2.5% $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 용액: $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 4.33 g 을 탈이온수에 녹여 100 ml 로 한다.

질산

희석액; 혼액solution (질산 20 ml, 2% PdCl_2 용액 10 ml, 2.5% $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 용액 20 ml)

Cd 표준용액; 10, 20, 30 $\mu\text{g}/\ell$

나. 기기조건:

Zeeman AAS (Perkin Elmer 5100-ZL)

분석과장 228.8 nm, 슬릿나비 0.7 nm

	Temp. (°C)	Time (ramp/hold)	Ar gas(ml/min)
Drying step 1	110	1/20	250
Drying step 2	130	1/20	250
Ashing step	700	5/20	250
Atomization step	1600	0/3	50
Cleaning step	2000	1/2	250

Calibration: Method of additions calibration

	Urine	Water	Dil.soln.	Aq.std.		
				10 μ g/ ℓ	20 μ g/ ℓ	30 μ g/ ℓ
Reagent blank		0.7ml	0.3ml			
Std 0 μ g/ ℓ	0.2ml	0.5ml	0.3ml			
Std 5 μ g/ ℓ	0.2ml	0.4ml	0.3ml	0.1ml		
Std 10 μ g/ ℓ	0.2ml	0.4ml	0.3ml		0.1ml	
Std 15 μ g/ ℓ	0.2ml	0.4ml	0.3ml			0.1ml
Urine sample	0.2ml	0.5ml	0.3ml			

3. 크롬(Cromium)

크롬은 원소기호 Cr, 원자번호 24, 원자량 52, 비중 7.19, 녹는점 1900 °C, 끓는점 2642 °C인 은백색의 금속이다. 크롬과 크롬화합물은 스테인리스 합금, 색소, 도금, 촉매, 항부식성 제품 생산에 쓰인다. 크롬은 +2, +3, +6의 원자가를 가질 수 있고 다양한 화합물을 이루며, 그 독성의 정도도 다양하다. 크롬은 인체에 필요한 영양소이기도 하다.

크롬의 급성중독은 심한 신장장애를 일으키며, 만성중독은 코, 폐, 위장의 점막에 병변을 일으킨다. 장기간 흡입하는 경우 발암성도 의심되고 있다.

크롬화합물의 체내흡수는 원자가와 용해도에 좌우된다. 입자크기가 커지면 흡수정도가 감소하고, 용해도가 증가하면 흡수정도가 증가한다. Cr(III)은 피부흡수가 어려우나 Cr(VI)은 쉽게 피부를 통과한다. 위장관에 들어온 수용성 Cr(VI)은 10% 정도만 흡수되고 나머지는 대변으로 배설된다. 수용성 Cr(VI)의 주배설경로는 소변이다. Cr(VI)이 인체내에서 환원되어 Cr(III)으로 배설된다. 수용성 크롬화합물은 폭로기간 중과 폭로직후 몇시간 중에 빠르게 배설된다. 뒤이어 느린 배설이 일어난다. Cr(III)는 단백질과 결합하여 적혈구를 통과하지 않으나, 수용성 Cr(VI)은 세포막을 쉽게 통과하여 효소에 의해 Cr(III)로 환원된다. 따라서 전혈중 크롬 농도는 Cr(III)과 Cr(VI)에의 장기간 폭로를 반영하며, 혈청 중 크롬은 Cr(III) 흡수를 반영한다. 단백질과 결합한 Cr(III)이 주로 체내를 순환하며, 조직 중에서도 주로 이 형태로 존재한다. 체내의 크롬은 주로 간, 신장, 지라, 폐에 축적된다.

직업적으로 폭로되지 않는 개인도 음식물, 흡연 등을 통해 크롬에 노출되며, 그 경우 평균 전혈중 농도 0.012-0.034 $\mu\text{g}/\text{dl}$, 혈청중 농도 0.004-0.035 $\mu\text{g}/\text{dl}$, 소변 중 농도 0.23-1 $\mu\text{g}/\text{l}$ 로 알려져있다. ACGIH BEI는 소변 중 총 크롬에 대해 10 $\mu\text{g}/\text{g creatinine}(\text{increase during shift})$, 30 $\mu\text{g}/\text{g}(\text{end-of-shift and end of workweek})$ 이다. 전자는 만성 폭로력이 있는 근로자의 근무일 동안의 폭로를 평가하는 기준이다. 새로이 폭로된 근로자의 경우 소변중 크롬 농도 증가가 훨씬 적을 (5 $\mu\text{g}/\text{g creatinine}$) 것으로 예상된다. 후자는 8시간 동안 수용성 Cr(VI) 흡수 0.05 mg/m^3 에 노출된 MMA (manual metal arc) 용접공을 기준으로 작성되었으며, 만성폭로력이 있는 근로자에게만 적용된다. 우리나라 근로자건강진단실시기준의 주의한계는 소변 중 크롬에 대해 50 $\mu\text{g}/\text{l}$ 이상이다.

1) 혈청중 크롬

(1) 분석원리

혈청중 크롬 농도는 원자흡광분석기(atomic absorption spectrometer: AAS)로 분석한다. 혈청은 복잡한 매질이므로 AAS의 바탕보정이 필요할 뿐 아니라, 표준물첨가법(standard additon method)에 의해 검량선을 작성한다. 특히, AAS의 크롬 분석 파장은 가시광선 영역에 가까운 장파장(357.9 nm)으로, D₂ 램프에 의한 바탕보정이 힘들고 지만(Zeeman) 방식의 바탕보정이 필요하다.

(2) 기구 및 시약

사용하는 모든 초자가구는 20% 질산에 4시간 이상 담가두었다가 탈이온수로 7회 헹구어 사용한다. 원자흡광분석기는 Zeeman graphite tube atomizer가 장착된 AAS를 사용한다. 흑연튜브는 pyrolytic coated partitioned tube를 사용한다.

탈이온수는 초순수제조장치로 제조한 비저항 18 MΩ의 것을 사용하거나 시판 AAS용 초순수를 사용한다. Triton X-100, 1000 ppm Cr 표준용액과 HNO₃는 특급 제품을 사용한다.

(3) 시료채취 방법 및 전처리

근로자의 정맥혈은 혈청 분리용 튜브와 1회용 주사기를 이용하여 채취한다. 오염되지 않도록 주의해야 한다. 밀봉하여 -20 ℃에서 보관하면 장기간 보관이 가능하다. 혈청은 첨가제가 없는 튜브에 채취된 혈액을 원심분리하여 얻는다. 혈청 시료는 0.1% Triton X-100 용액에 10배로 희석되어 AAS에 주입된다. 시료는 3분 이상 잘 섞어준 다음 취하여 희석한다. 표준물첨가법(standard additon method)에 의해 검량선을 작성한다.

(4) 기기조건

흑연로 조건은 표와 같다.

표. 혈청 중 크롬 분석을 위한 원자흡광분석기 흑연로 조건

Step No.	Temp(°C)	Time(sec)	Gas flow(ℓ /min)
1	90	10	3
2	90	10	3
3	110	15	3
4	110	10	3
5	1100	15	3
6	1100	15	3
7	1100	2	0
8	2600	0.8	0 read
9	2600	2	0 read
10	2750	2	3
11	2750	5	3

분석파장은 357.9 nm, 램프 전류는 7 mA, 슬릿 나비는 0.2 nm, 슬릿 높이는 Reduced였으며, 지만(Zeeman) 효과에 의한 바탕보정을 하였다. 자동시료주입기로 30 μ l의 시료를 흑연튜브에 주입하였다.

(5) 검량선 작성 및 결과 처리

시판되는 1000 ppm Cr 표준용액을 탈이온수로 단계적으로 희석하여 Pb 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 μ g/dl 표준용액을 만든다. 0.1% Triton X-100 용액 0.8 ml에 Cr 표준용액 0.1 ml, 정상인 혈청 0.1 ml를 가하여 잘 섞어 표준물 첨가법에 의한 검량선 작성용 시료로 한다. 0.1% Triton X-100 용액 0.8 ml에 탈이온수 0.1 ml, 시료 혈청 0.1 ml를 가하여 잘 섞어 분석용 검체로 한다.

검량선 및 검출한계 산출식은 부록을 참조하기 바란다.

2) 소변중 크롬

(1) 분석원리

소변중 크롬 농도는 원자흡광분석기(atomic absorption spectrometer: AAS)로 분석한다. 소변은 복잡한 매질이므로 AAS의 바탕보정이 필요할 뿐 아니라, 표준물첨가법(standard additon method)에 의해 검량선을 작성한다. 특히, AAS의 크롬 분석 파장은 가시광선 영역에 가까운 장파장(357.9 nm)으로, D₂ 램프에 의한 바탕보정이 힘들고 지만(Zeeman) 방식의 바탕보정이 필요하다.

(2) 기구 및 시약

사용하는 모든 초자기구는 20% 질산에 4시간 이상 담가두었다가 탈이온수로 7회 헹구어 사용한다. 원자흡광분석기는 Zeeman graphite tube atomizer가 장착된 Zeeman AAS를 사용한다. 흑연튜브는 pyrolytic coated partitioned tube를 사용한다.

탈이온수는 초순수제조장치로 제조한 비저항 18 MΩ의 것을 사용하거나 시판되는 AAS용 초순수를 구매하여 사용한다. Triton X-100, 1000 ppm Cr 표준용액과 HNO₃는 특급 제품을 사용한다.

(3) 시료채취 방법 및 전처리

소변을 채취할 때는 특히 근로자의 옷이나 몸으로부터의 오염을 주의해야 한다. 소변시료는 분석 전까지 냉장 또는 냉동 보관한다.

소변시료는 0.1% Triton X-100 용액에 10배로 희석되어 AAS에 주입된다. 시료는 3분 이상 잘 섞어준 다음 취하여 희석한다. 표준물첨가법(standard additon method)에 의해 검량선을 작성한다.

(4) 기기조건

흑연로 조건은 표와 같다.

표. 소변중 크롬 분석을 위한 원자흡광분석기 흑연로 조건

Step No.	Temp(℃)	Time(sec)	Gas flow(ℓ/min)
1	90	10	3
2	90	10	3
3	110	15	3
4	110	10	3
5	1100	15	3
6	1100	15	3
7	1100	2	0
8	2600	0.8	0 read
9	2600	2	0 read
10	2750	2	3
11	2750	5	3

분석과장은 357.9 nm, 램프 전류는 7 mA, 슬릿 나비는 0.2 nm, 슬릿 높이는 Reduced, 지만(Zeeman) 효과에 의한 바탕보정을 한다. 자동시료주입기로 30 $\mu\ell$ 의 시료를 흑연튜브에 주입한다.

(5) 검량선 작성 및 결과 처리

시판되는 1000 ppm Cr 표준용액을 탈이온수로 단계적으로 희석하여 Pb 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 표준용액을 만든다. 0.1% Triton X-100 용액 0.8 ml에 Cr 표준용액 0.1 ml, 정상인 소변 0.1 ml를 가하여 잘 섞어 표준물 첨가법에 의한 검량선 작성용 시료로 한다. 0.1% Triton X-100 용액 0.8 ml에 탈이온수 0.1 ml, 시료 소변 0.1 ml를 가하여 잘 섞어 분석용 검체로 한다.

작업후 채취한 1회 소변 중의 크롬의 존재는 폭로를 암시하지만, 소변 채취 당일의 폭로강도와 이전의 고폭로를 구분할 수는 없다.

검량선 및 검출한계 산출식은 부록을 참조하기 바란다.

4. 망간(Manganese)

망간은 원소기호 Mn, 원자번호 25, 원자량 54.94, 비중 7.21-7.4, 녹는점 1260 ℃, 끓는점 1962 ℃인, 회백색의 금속이다. 반응성이 매우 크고 일곱 종류의 원자가를 가질 수 있다. 광석 중에는 주로 검은색의 이산화망간(MnO_2) 형태로 존재한다. 망간은 합금의 경도(hardness)를 증가시킬 목적으로 첨가되는 수가 많고, 이산화망간은 건전지 제조에 쓰인다. 근로자는 망간광석 분쇄작업, 광석제련, 용접, 건전지제조업 등에서 망간에 노출된다. 만성중독을 일으키는 것은 2가의 망간화합물이고, 3가 이상의 망간화합물은 부식성을 나타낼 뿐이다. 직업성 망간중독은 신경계의 이상으로 나타난다.

망간은 호흡기, 소화기, 피부 등을 통해 체내에 들어오게 된다. 호흡기를 통한 경로가 가장 많다. 소화기를 통해 들어온 망간은 4% 정도가 흡수된다. 적혈구 속의 망간이 혈장에 비해 5배 정도 많다. 체내에 흡수된 망간은 혈액에서 신속하게 제거되고 체내 총량의 43% 정도는 뼈에 침착되며, 내장기관은 간, 뇌하수체, 소장, 췌장 순으로 침착된다. 소변중 망간의 배설농도가 낮은 경우 망간은 간에 축적된다. 담즙을 통해 대변으로 주로 배설되며 소변중 배설은 섭취량의 6%에 불과하다. 그러나 유기망간인 2-메틸사이클로펜타다에닐 트리카보닐 망간(MMT: 2-methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl)에 폭로되었을 경우에는 총 MMT 흡수량의 30%가 소변으로 배설된다.

직업적으로 망간에 노출되지 않는 정상인의 전혈 중 망간 농도는 평균 0.57-2.33 $\mu g/dl$, 소변 중 망간 농도는 평균 0.15-1.75 $\mu g/l$ 로 알려져 있다.

1) 혈중 망간

(1) 분석원리

전혈 중 망간 농도는 원자흡광분석기(atomic absorption spectrometer: AAS)로 분석한다. 혈액은 대단히 복잡한 매질이므로 AAS의 바탕보정이 필요할 뿐 아니라, 표준물첨가법(standard additon method)에 의해 검량선을 작성한다.

(2) 기구 및 시약

사용하는 모든 초자기구는 20% 질산에 4시간 이상 담가두었다가 탈이온수로 7회 행구어 사용한다. 원자흡광분석기는 graphite tube atomizer가 장착된 D₂ 램프 보정방식의 AAS를 사용한다. 흑연튜브는 pyrolytic coated partitioned tube를 사용한다.

탈이온수는 초순수제조장치로 제조한 비저항 18 MΩ의 것을 사용하거나 AAS용 시판 초순수를 구매하여 사용한다. Triton X-100, 1000 ppm Mn 표준용액과 HNO₃는 특급 제품을 사용하였다.

(3) 시료채취 방법 및 전처리

근로자의 정맥혈은 헤파린 또는 EDTA 처리된 튜브와 1회용 주사기를 이용하여 채취한다. 오염되지 않도록 주의해야 한다. 밀봉하여 -20 ℃에서 보관하면 장기 보관이 가능하다. 전혈시료는 0.1% Triton X-100 용액에 20배로 희석되어 AAS에 주입된다. 시료는 3분 이상 잘 섞어준 다음 취하여 희석한다. 표준물첨가법(standard additon method)에 의해 검량선을 작성한다.

(4) 기기조건

흑연로 조건은 표와 같다.

표. 전혈 중 망간 분석을 위한 원자흡광분석기 흑연로 조건

Step No.	Temp(°C)	Time(sec)	Gas flow(ℓ /min)
1	90	10	3
2	90	10	3
3	110	15	3
4	110	10	3
5	1150	15	3
6	1150	15	3
7	1150	2	0
8	2400	0.7	0 read
9	2400	2	0 read
10	2500	2	3
11	2500	5	3

분석과장은 279.5 nm, 램프 전류는 5 mA, 슬릿 나비는 0.2 nm, 슬릿 높이는 Normal, D₂ 램프에 의한 바탕보정을 하였다. 자동시료주입기로 15 μ l의 시료를 흑연튜브에 주입한다.

(5) 검량선 작성 및 결과 처리

시판되는 1000 ppm Mn 표준용액을 탈이온수로 단계적으로 희석하여 전혈중 망간 분석을 위해서는 Mn 1, 3, 5, 7 μ g/dl 표준용액을 만들었다. 0.1% Triton X-100 용액 1.8 ml에 Mn 표준용액 0.1 ml, 정상인 전혈 0.1 ml를 가하여 잘 섞어 표준물 첨가법에 의한 검량선 작성용 시료로 한다. 0.1% Triton X-100 용액 1.8 ml에 탈이온수 0.1 ml, 시료 전혈 0.1 ml를 가하여 잘 섞어 분석용 검체로 한다.

검량선 및 검출한계 산출식은 부록을 참조하기 바란다.

2) 소변중 망간

(1) 분석원리

소변중 망간 농도를 원자흡광분석기(atomic absorption spectrometer: AAS)로 분석한다. 소변은 대단히 복잡한 매질이므로 AAS의 바탕보정이 필요할 뿐 아니라, 표준물첨가법(standard additon method)에 의해 검량선을 작성한다.

(2) 기구 및 시약

사용하는 모든 초자기구는 20% 질산에 4시간 이상 담가두었다가 탈이온수로 7회 행구어 사용한다. 원자흡광분석기는 graphite tube atomizer가 장착된 D₂ 램프 보정방식의 AAS를 사용한다. 흑연튜브는 pyrolytic coated partitioned tube를 사용한다.

탈이온수는 초순수제조장치로 제조한 비저항 18 MΩ의 것을 사용하거나 시판 AAS용 초순수를 사용한다. Triton X-100, 1000 ppm Mn 표준용액과 HNO₃는 특급 제품을 사용한다.

(3) 시료채취 방법 및 전처리

소변을 채취할 때는 특히 근로자의 옷이나 몸으로부터의 오염을 주의해야 한다. 소변시료는 분석 전까지 냉장 또는 냉동 보관한다. 시료는 3분 이상 잘 섞어준 다음 취하여 희석한다. 표준물첨가법(standard additon method)에 의해 검량선을 작성한다.

(4) 기기조건

흑연로 조건은 표와 같다.

표. 소변 중 망간 분석을 위한 원자흡광분석기 흑연로 조건

Step No.	Temp(°C)	Time(sec)	Gas flow(ℓ/min)
1	90	10	3
2	90	10	3
3	110	15	3
4	110	10	3
5	1150	15	3
6	1150	15	3
7	1150	2	0
8	2400	0.7	0 read
9	2400	2	0 read
10	2500	2	3
11	2500	5	3

분석파장은 279.5 nm, 램프 전류는 5 mA, 슬릿 나비는 0.2 nm, 슬릿 높이는 Normal였으며, D₂ 램프에 의한 바탕보정을 한다. 자동시료주입기로 15 μ ℓ의 시료를 흑연튜브에 주입한다.

(5) 검량선 작성 및 결과 처리

시판되는 1000 ppm Mn 표준용액을 탈이온수로 단계적으로 희석하여 소변중 망간 분석을 위해서는 Mn 5, 10, 20, 30 μ g/ℓ 표준용액을 만든다. 0.1% Triton X-100 용액 0.8 ml에 Mn 표준용액 0.1 ml, 정상인 소변 0.1 ml를 가하여 잘 섞어 표준물 첨가법에 의한 검량선 작성용 시료로 한다. 0.1% Triton X-100 용액 0.8 ml에 탈이온수 0.1 ml, 시료 소변 0.1 ml를 가하여 잘 섞어 분석용 검체로 한다.

검량선 및 검출한계 산출식은 부록을 참조하기 바란다.

5. 수은(Mercury)

수은은 원소기호 Hg, 원자번호 80, 원자량 200.5, 비중 13.546(20 °C), 녹는점 -38.85 °C, 끓는점 356.6 °C, 증기압 0.0018 torr(25°C)인, 은빛의 액체 금속이다. +1, +2의 원자가를 가질 수 있다. 수은은 유일한 액체 중금속으로서 온도계, 압력계, 형광등, 아말감에 사용되며, 수은화합물들은 살충제, 방부제, 건전지, 색소 등에 사용된다. 유기수은화합물, 수용성 Hg(II) 화합물은 매우 유독하다. 50년대 일본에서 공해질환으로서 미나마타 병을 일으킨 사건은 유명하며, 우리나라에서도 형광등 및 온도계 제조업체에서 직업성 수은중독이 발생한 바 있다. Hg(I) 화합물은 경구섭취되었을 때 독성이 덜한데, 위장에서 비교적 난용성인 Hg₂Cl₂를 형성하기 때문으로 생각된다. 알킬수은은 지용성이고 신경조직에 축적되며, 더 천천히 배설되어 혈액 중에 머무르는 시간이 길다. 거의 완전히 흡수되며 매우 유독하다. 생체 내에서 금속수은 또는 무기수은이 알킬수은으로 생체변환되기도 한다.

금속수은은 대부분 증기 형태로 기도를 통해 흡수된다. 흡수된 수은 증기의 약 80%는 폐포에서 빨리 흡수된다. 반면에 경구섭취에서는 소화관 점막에서의 흡수율이 나빠서 0.01% 이하만이 흡수된다. 금속수은이 직접 피하로 들어가면 주요 장기의 상해가 크다. 금속수은은 흡수되면 후에 단시간은 혈액 중에 Hg(0) 상태 그대로 존재하며, 이 상태는 혈액-뇌관문(blood-brain barrier)을 투과하기 쉬워 뇌내에 축적되는 경향이 많다. 혈액 및 조직 중의 Hg(0)은 Hg(II)로 산화되어 조직단백질과 결합한다. 장기 수은 폭로자의 혈액 중 수은은 적혈구와 혈장에 거의 같은 비율로 분포한다.

무기수은화합물은 호흡기, 소화기 어느 경로라도 흡수된다. 소화기로 들어온 무기수은염은 10-22%가 흡수된다. 수은이온은 혈액-뇌관문을 통과하기 어려워 무기수은화합물의 폭로에서는 뇌내 축적은 잘 일어나지 않는다.

수은의 축적장기는 금속수은에서는 신장, 뇌이며, 무기수은염에서는 신장이다. 수은은 주로 대변과 소변으로 배설되는데, 폭로 직후에는 호기 중으로도 배설된다.

WHO action level은 58 µg/ℓ이며, 우리나라 근로자건강진단설시기준의 관리한계는 소변 중 수은 300 µg/ℓ 이상 (금속수은, 무기수은), 50 µg/ℓ 이상 (알킬수은)이다.

1) 소변중 수은

(1) 분석원리

소변 중 수은을 산성조건에서 환원, 수은증기를 생성시켜 분석하는 증기생성-원자흡광분석기(vapor generation-atomic absorption spectrometer)로 분석한다.

(2) 기구 및 시약

사용하는 모든 초자기구는 20% 질산에 4시간 이상 담가두었다가 탈이온수로 7회 헹구어 사용한다. 원자흡광분석기는 VGA-76 vapor generation accessory가 장착된 D₂ 램프 보정방식의 AAS를 사용한다.

탈이온수는 초순수제조장치로 제조한 비저항 18 MΩ의 것을 사용하거나 시판 AAS용 탈이온수를 구매하여 사용한다. HCl(37%), H₂SO₄, 1000 ppm Hg 표준용액, NaBH₄는 특급시약을 사용한다. NaOH, KMnO₄, NH₂OH · HCl은 특급시약을 사용한다.

(3) 시료채취 방법 및 전처리

소변을 채취할 때는 특히 근로자의 옷이나 몸으로부터의 오염을 주의해야 한다. 소변시료는 분석 전까지 냉장 또는 냉동 보관한다. 시료는 3분 이상 잘 섞어 준 다음 취하여 희석한다. 표준물첨가법(standard additon method)에 의해 검량선을 작성한다.

(4) 기기조건

분석파장은 253.7 nm, 램프 전류는 4 mA, 슬릿 나비는 0.5 nm, 슬릿 높이는 Normal였으며, D₂ 램프에 의한 바탕보정을 한다. 증기생성장치에 5M HCl와 환원제 0.3% NaBH₄ + 0.5% NaOH가 각각 유속 1 ml/min로 도입하고, 시료용액은 유속 8 ml/min로 도입한다.

(5) 검량선 작성 및 결과 처리

시판되는 1000 ppm Hg 표준용액을 탈이온수로 단계적으로 희석하여 Hg 10, 20, 30 µg/l 표준용액을 만든다. 표준용액을 시료와 똑같이 KMnO₄ 처리하여 증기생성-원자흡광분석기에 도입한다. 탈이온수를 시료와 똑같이 KMnO₄ 처리하여 공시료(blank)로 한다.

검량선 및 검출한계 산출식은 부록을 참조하기 바란다.

2) 전혈 중 수은 (Hg in whole blood)

유기수은 폭로와 최근의 음식물 섭취를 평가하는데 있어 보다 의미있는 지표가 될 수 있다.

(1) 분석원리

(MJ.Trepka et.al, *Archives of Environmental Health*, 52(2), 134-138, 1997)

전혈은 황산산성에서 KMnO_4 로 처리하여 유기물을 산화시키고 증기생성-원자흡광분석기에 도입한다. 전혈은 3분 이상 잘 섞어준 다음 취한다. 1 ml 전혈을 vortexing하고 Triton X-100 20 μl , 산 혼액 (1.5% HNO_3 : 1.5% H_2SO_4) 9 ml, 1-옥탄올 0.250 μl , 5% KMnO_4 용액 몇방울을 가한다. 반응용기의 가장자리에 실리콘 디포머(silicon defoamer)를 발라둔다. 시료를 NaBH_4 와 혼합하여 증기생성-원자흡광분석기에 도입한다. 일간 정밀도는 8.5%, 0.215-0.618 $\mu\text{g}/\text{l}$ 범위에서 정확도는 -22.3-2.3% 였다.

(2) 시료채취 방법 및 전처리

근로자의 정맥혈은 헤파린 또는 EDTA 처리된 튜브와 1회용 주사기를 이용하여 채취하였다. 오염되지 않도록 주의해야 한다. 밀봉하여 -20°C 에서 보관하면 장기간 보관이 가능하다.

(3) 기기조건

분석파장은 253.7 nm, 램프 전류는 4 mA, 슬릿 나비는 0.5 nm, 슬릿 높이는 Normal였으며, D_2 램프에 의한 바탕보정을 한다. 증기생성장치에 5M HCl와 환원제 0.3% NaBH_4 + 0.5% NaOH가 각각 유속 1 ml/min로 도입되었고, 시료용액은 유속 8 ml/min로 도입된다.

(4) 검량선 작성 및 결과 처리

시판되는 1000 ppm Hg 표준용액을 탈이온수로 단계적으로 희석하여 Hg 10, 20, 30 $\mu\text{g}/\text{l}$ 표준용액을 만든다. 표준용액을 시료와 똑같이 KMnO_4 처리하여 증기생성-원자흡광분석기에 도입한다. 탈이온수를 시료와 똑같이 KMnO_4 처리하여 공시료(blank)로 한다.

D.E.Nixon et.al, *J.Anal.Tox.*, 20(1), 17-22, 1996

- 시약조제

① 0.05% $K_2Cr_2O_7$: $K_2Cr_2O_7$ 0.5 g을 탈이온수 1000 ml에 녹인다.

② 5% $KMnO_4$: $KMnO_4$ 25 g을 탈이온수 500 ml에 녹인다.

갈색병에 담아 실온에 보관한다.

③ 5% HCl : conc. HCl 50 ml을 탈이온수 1000 ml에 가한다.

④ 3% HCl : conc. HCl 240 ml, silicone antifoaming agent 5 ml를 탈이온수 8000 ml에 녹인다.

⑤ 5% $SnCl_2$: 신선한 $SnCl_2$ 50 g을 5% HCl 1000 ml에 녹인다.

⑥ 회화용 산혼액 : 탈이온수 1500 ml, conc. HNO_3 250 ml, conc. H_2SO_4 250ml를 혼합한다.

⑦ Hg 표준용액: 시판되는 1000 ppm 용액을 0.05% $K_2Cr_2O_7$ 용액으로 희석하여 조제한다.

▶ 무기수는 분석을 위한 전처리 (고전적인 강산-과망간산염 회화)

회화용 산혼액 6.5 ml에 5% $KMnO_4$ 2 ml를 가하고 잘 섞는다. 전혈 0.5 ml (소변의 경우 1.0 ml)를 가하고 실온에서 60분간 매 15분마다 vortex한다. 3000 rpm에서 10분간 원심분리하고 상등액을 따라낸다. 탈이온수를 가해 부피를 9.0 ml로 조절한다.

▶ 유기수는 분석을 위한 전처리 (강산-과황산염 회화)

$K_2S_2O_8$ 0.2 g, conc. HNO_3 4 ml, H_2SO_4 0.5 ml를 잘 섞는다. 전혈 0.5 ml (소변의 경우 1.0 ml)를 가하고 dry block heater에서 95 °C로 30분 동안 가열한다. 거품발생이 그치고 질소산화물의 흡이 혼합물 위에 나타나면 회화가 완결된 것으로 본다.

▶ 기기조건

- spectrophotometer	wavelength	253.7 nm
	slit	0.7 nm
- liquid flow rates	5% $SnCl_2$	1.14 ml/min
	3% HCl	1.40 ml/min
	sample	1.40 ml/min
- gas flow rate	argon	60 cm ³ /min

참 고 문 헌

- General Reference

1. 조 규상 외, 산업보건학, 개정증보판, 1991, 수문사
2. ACGIH, *Documentation of the Biological Exposure indices*, 1991
3. Lauwerys,R.R. and Hoet,P. *Industrial chemical exposure: Guidelines for biological monitoring*, Lewis publishers.2nd ed. (1993)
4. Kneip,T.J. and Crable,J.V. *Methods for biological monitoring: A manual for assessing human exposure to hazardous substances*, American Public Health Association. (1987)
5. D.A.Skoog, *Principles of Instrumental Analysis*, 3rd ed., Saunders College Publishing.
6. NIOSH, *NIOSH Manual of Analytical Methods*, 4th ed., (1994)
7. M.Gochfeld, *Occupational medicine: State of th Art Reviews*, 5(1), 25-31, 1990
8. O.M.Poulsen et.al, *Sci.Total.Environ*, 141, 197-215, 1994
9. J Angerer and KH Schaller, *Analyses of hazardous substances in biological materials*, vol 1 - vol 4, VCH, Deutsche Forschungsgemeinschaft, 1992

– **Calculation of LOD**

10. JC Miller and JN Miller, Statistics for analytical chemistry, second edition, 1995
11. PJ Underwood, GE Kananen and EK Armitage, A practical approach to determination of laboratory GC-MS limits of detection, J Anal Tox. vol21, 12-16, 1997

– **Lead**

12. OJ David, HL Wintrob, CG Arcoleo, Blood Lead Stability, Arch Environ Health, vol37, no3, 147-150 1982
13. EP Wagner, IB Smith, JD Winefordner, Ultratrace determination of lead in whole blood using electrothermal atomization laser-excited atomic fluorescence spectrometry, Anal Chem, 68, 3199-3203, 1996
14. J.S.Yang, S.K.Kang, I.J.Park, K.Y.Rhee, Y.H.Moon, D.H.Sohn, Lead concentrations in blood among the general population of Korea, Int. Arch. Occup. Environ. Health, 68:199-202, 1996
15. 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
16. ZW Zhang et al., Background exposure of urban populations to lead and cadmium comparison between China and Japan, Int Arch Ocup Environ Health 69, 273-281, 1997
17. S Araki, H Aono, K Murata, Adjustment of urinary concentration to urinary volume in relation to Erythrocyte and plasma concentrations: An evaluation of urinary heavy metals and organic substances, Arch Environ Health, vol41, no3, 171-177, 1986

18. J Staessen *et al.*, Urinary cadmium and lead concentrations and their relation to blood pressure in a population with low exposure, *British J Ind Med*, 41, 241-248, 1984
19. J MacGee *et al.*, Determination of delta-aminolevulinic acid in blood plasma and urine by gas liquid chromatography, *biochemical medicine*, 17, 31-44, 1977
20. T Tabuchi *et al.*, A new HPLC fluorimetric method to monitor urinary delta-aminolevulinic acid levels in workers exposed to lead, *Int Arch Occup Environ Health*, 61, 297-302, 1989
21. A Araki, Effect of urinary volume on urinary concentrations of lead, delta-aminolevulinic acid, coproporphyrin, creatinine, and total solutes, *Brit j Ind Med*, 37, 50-54, 1980
22. T Takebayashi, K Omae, K Hosoda *et al.*, Evaluation of delta-aminolevulinic acid in blood of workers exposed to lead, *Brit J Ind Med*, 50, 49-54, 1993
23. U Witting *et al.*, Evaluation of a new specific analysis of urinary delta-aminolevulinic acid in man, *Int Arch Occup Environ Health*, 59, 375-383, 1987
24. K Tomokuni *et al.*, Comparison between the fluorometric HPLC method and the conventional method for determining urinary delta-aminolevulinic acid and coproporphyrin as indices of lead exposure, *Int Arch Occup Environ Health*, 61, 153-156, 1988
25. M Ogata and T Taguchi, High performance liquid chromatographic procedure for quantitative determination of urinary delta-aminolevulinic acid as indices of lead exposure, *Int Arch Environ Health*, 59, 385-391, 1987
26. Y Morita *et al.*, Determination of delta-aminolevulinic acid in plasma using high performance liquid chromatography: A sensitive indicator of lead

effects, *Industrial Health*, 32, 85-96, 1994

27. K Tomokuni and M Ichiba, Simple determination of erythrocyte pyrimidine 5-nucleotidase activity in human blood by high performance liquid chromatography, *Industrial Health*, 24, 227-233, 1986
28. T Sakai, *et al.*, Determination of pyrimidine 5-nucleotidase(P5N) activity in whole blood as an index of lead exposure, *Brit J Ind Med* 45, 420-425, 1988
29. H Oishi *et al.*, Fluorometric HPLC determination of delta-aminolevulinic acid in the plasma and urine of lead workers : Biological indicators of lead exposure, *J Anal Tox* vol20, 106-110, 1996

– **Cadmium**

30. MA McDirmid, CS Freeman *et al.*, Biological monitoring results for cadmium exposed workers, *AIHA J*, 57, 1019-1023, 1996
31. M Ikeda *et al.*, The integrity of the liver among people environmentally exposed to cadmium at various levels, *Int Arch Occup Health*, 69, 379-385, 1997
32. R Herber, JM Christensen, E Sabbioni, Critical evaluation and review of cadmium concentrations in blood for use in occupational health according to the TRACY protocol, *Int Arch Occup Health*, 69, 372-378, 1997
33. L Jaruo, CG Elinder G Span, Cumulative blood cadmium and tubular proteinuria a dose response relationship, *Int Arch Environ Health*, 60, 223-229, 1988
34. E Hassler, B Lind and M Piscator, Cadmium in blood and urine related to present and past exposure, *Brit J Ind Med*, 40, 420-425, 1983
35. KS Chia, CN Ong, HY Ong, G Endo, Renal tubular function of workers

exposed to low levels of cadmium, Brit J Ind Med 46, 165-170, 1989

36. V Lagesson and L Andrasko, Direct determination of lead and cadmium in blood and urine by flameless atomic absorption spectrophotometry, Clin Chem 25, 1948-1953, 1979
37. M Stoeppler and K Brandt, Contributions to automated trace analysis, V. Determination of cadmium in whole blood and urine by electrothermal atomic absorption spectrophotometry, Fresen Z Anal Chem, 300, 372-380, 1980
38. M Stoeppler, Analysis of cadmium in biological materials, In Cadmium association, London, Cadmium council, New York, 95-102, 1982
39. BR Culver and T Surles, Interference of molecular spectra due to alkali halides in nonflame atomic absorption spectrometer, Anal Chem, 47, 920-921, 1975
40. T Moreau *et al.*, Blood cadmium levels in a general male population with special reference to smoking, Arch Environ Health, vol38, no3, 163-167, 1983

- Cr

41. H. Nomiya *et al.*, Normal chromium levels in urine and blood of Japanese subjects determined by direct flameless atomic absorption spectrophotometry and valency of chromium in urine after exposure to hexavalent chromium, Am Ind Hyg Ass J, 41, 98-102, 1980
42. BW Morris and GJ Kemp, Chromium in plasma and urine as measured by electrothermal atomic absorption spectroscopy, Clin Chem 31, 171-172, 1985
43. C Veillon, Trace element analysis of biological samples, Anal Chem, 58, 851A-866A, 1986

44. LC Hansen, WG Scribner *et al.*, Rapid analysis for subnanogram amounts of chromium in blood and plasma using electron capture gas chromatography, *Anal. Chem.*, 43, 349-354, 1971
45. HJ Bowen, The determination of chromium in biological material by radioactivation, *Analyst*, 89, 658-661, 1964
46. RT Liand *et al.*, Determination of chromium of biological samples using chemiluminescence, *Anal. Chem.*, 46, 916-920, 1974
47. E Holst, JM Christensen, Intervals for the description of the biological level of a trace element in a reference population, *The statistician*, 41, 233-242, 1992
48. RS Pekark, The determination of serum chromium by an AAS with a heated graphite atomizer, *Anal Biochem.*, 59, 283, 1974
49. P Liu *et al.*, Determination of urinary chromium for healthy men and diabetic patients by electrothermal atomic absorption spectrometer, *Anal Chim Acta*, 147, 205, 1983
50. J Angerer *et al.*, Occupational chronic exposure to metals, Chromium exposure of stainless steel welders - biological monitoring, *Int Arch Occup Environ Health*, 59, 503-512, 1987
51. JM Christensen *et al.*, Determination of chromium in blood and serum evaluation of quality control procedures and estimation of reference values in Danish subjects, *The Sci Total Environ*, 132, 11-25, 1993
52. J Kupulainen *et al.*, Determination of chromium, in human milk, sera and urine by electrothermal atomic spectroscopy without preliminary ashing, *Sci Total Environ*, 31, 71-80, 1983

53. A Lukanova *et al.*, Occupational exposure to Cr, Comparison between chromium levels in lymphocytes, erythrocytes, and urine, *Int Arch Occup Health*, 69, 39-44, 1996

– **Mn**

54. J Kucera *et al.*, Review of trace elements in blood, serum and urine for the Czech and Slovak populations and critical evaluation, *The Sci Total Environ* 166, 211-234, 1996
55. H Aono and S Araki, Circadian rhythms in the urinary excretion of heavy metals and organic substances in metal workers in relation to renal excretory mechanism: profile analysis, *Int Arch Occup Environ* 60, 1-6, 1988
56. Yiin SJ, Lipid peroxidation in workers exposed to manganese, 1996, *Scand J Work Environ*, p381-6
57. Hauser RA, Blood manganese correlates with brain magnetic resonance imaging changes in patients with liver disease, 1996, *Can J Neurol Sci*, vol23, p95-8
58. Lucchini R, Neurobehavioral effects of manganese in workers from a ferroally plant after temporary cessation of exposure, 1995, *Scan J Work Environ Health* vol 21, p143-9
59. Kaji H, *et al.*, Determination of blood and urine manganese concentrations and the application of static sensography as the indices of Mn-exposure among Mn-refinery workers, 1993, *Sangyo Ika Daigaku Zasshi*, vol15, p287-96
60. Jarvisalo J, Urinary and blood manganese in occupationally nonexposed populations and in manual metal arc welders of mild steel, 1992, *Int Arch*

Occup Environ Health, vol63, p495-501

61. Koudogbo B, 1991, J Toxicol Clin Exp, vol11, p175-81
62. Roels H, Assessment of the permissible exposure level to manganese in workers exposed to manganese dioxide dust, 1987, Am J Ind Med, vol 11, p297-305
63. T Watanabe et al., Determination of urinary manganese by the direct chelation extraction method and flameless atomic absorption spectrophotometry, Brit J Ind Med, 35, 73-77, 1978
64. Chia SE, Neurobehavioral functions among workers exposed to manganese ore, 1993, Scan J Work Environ Health, vol 19, p264-270
65. Hams GA, An analysis for blood manganese used to assess environmental exposure, Clin Chem vol34, p1121-3

– **Hg**

66. AA instruments at work, Number AA-38, March 1983, Varian.
67. JK Pietrowski *et al.*, Excretion kinetics and variability of urinary mercury in workers exposed to mercury vapour, Int Arch Occup Environ Health, 35, 245-256, 1975
68. J Angerer *et al.*, The pre-analytical phase of toxicological monitoring examinations in occupational medicine, Trends Anal Chem, 2, 257-261, 1983
69. WR Hatch and WL Ott, Determination of sub-microgram quantities of mercury and methylmercury in undigested biological samples, Anal Chem, 40, 2085-2087, 1968

70. L Magos, Selective atomic absorption determination of inorganic mercury and methylmercury in undigested biological samples, *Analyst*, 96, 847-853, 1971
71. L Magos and TW Clarkson, Atomic absorption determination of total, inorganic and organic mercury in blood, *J Assoc Off Anal Chem*, 55, 966-971, 1972
72. DG Ellingsen *et al.*, Mercury and selenium in workers previously exposed to mercury vapour at a chloralkali plant, *Brit J Ind Med*, 50, 745-752, 1993
73. MJ Trepka *et al.*, Factors affecting internal mercury burdens among eastern German children, *Arch Environ Health*, vol52, no2, 134-138, 1997
74. KG Orloff *et al.*, Human exposure to elemental mercury in a contaminated residential building, *Arch Environ Health*, vol52, no3, 169-172, 1997
75. L Barregard *et al.*, Dose dependent elimination kinetics for mercury in urine; observations in subject with brief but high level exposure, *Int Arch Occup Environ Health*, 68, 345-348, 1996
76. S Langworth *et al.*, Biological monitoring of environmental and occupational exposure to mercury, *Int Arch Occup Environ Health*, 63, 161-167, 1991
77. G Sallsten *et al.*, Decrease in mercury concentration in blood after long term exposure, a kinetic study of chloralkali workers, *Brit J Ind Med*, 50, 814-821, 1993
78. JB Hursh *et al.*, Percutaneous absorption of mercury vapor by man, *Arch Environ Health*, vol44, no2, 120-127, 1989

IV. 유기분석(Organic analysis) 이론

- 크로마토그래피(Chromatography)

크로마토그래피는 처음에는 실험실적으로 혼합물질을 분취하기 위한 수단으로 사용되었다. 최초의 크로마토그래피 실험은 1903년 소련의 식물학자인 Tswett가 식물의 잎사귀에 있는 엽록소 a와 b를 이눌린으로 충전시킨 유리관에 석유에테르를 용매로 흘려 분리시킨 실험이다. 그 후 분리 대상시료가 색깔을 갖는 색소나 염료이외에도 모든 시료에 원리적으로 가능함을 알게 되어 분석화학자들에게 흥미 있는 분리실험법으로 인식되게 되었고 많은 연구가 수행되었다.

1950년대 석유화학공업 분야의 분석업무에 획기적인 응답을 준 기체크로마토그래피 (Liquid Chromatography: GC)의 등장으로 크로마토그래피의 장치, 검출기 등 기기 부분의 큰 발전을 보게 되었다. 1970년대에는 GC 발전에 힘입어 액체크로마토그래피(Liquid Chromatography: LC)도 상당히 발전되어, 분리도 및 분리시간의 문제로 종래에 사용의 제한이 상당히 많았던 고전 LC(Classical LC)로부터 고성능의 HPLC(High Performance LC)로 성장되었다. 따라서 최근의 GC와 LC는 서로 상호보완적인 입장에서 대부분 시료의 성분분리, 검출, 정량이 가능한 분석법으로서의 면모를 갖추게 되었다. GC와 LC의 응용범위는 일반분석에서부터 유기화합물, 고분자, 위약품, 농약 등의 합성 및 분석, 각종 환경시료 및 생화학 물질의 검출, 각종 제품의 품질관리에 이르기까지 다양하게 활용된다.

1. 기초원리 및 이론

앞에 소개한 Tswett의 실험에서 식물의 색소들이 분리된 것은 흡착제인 이눌린과 용리액으로 사용된 석유에테르에 대한 각 색소 성분의 분포도가 다르기 때문에 분리되었다고 해석한다. 여기서 이눌린은 색소 성분을 자기상(phase)에 머무르게 하는 성질을 가졌고, 반대로 석유에테르는 색소성분을 자기상(phase)과 함께 이동시키려는 성질을 갖는다. 전자를 정지상(stationary phase), 후자를 이동상(mobile phase)이라 부르며, 두상은 서로 섞일 수 없으며 서로 다른 특성을 갖는다. 따라서 크로마토그래피는 혼합물을 이루고 있는 각 성분이 두 상에 대해 서로 다른 분포도를 갖기 때문에 분리가 되는 원리에 입각한 분리법이라고 간단히 정의할 수 있다. 크로마토그래피(chromatography)란 말 뜻은 색깔(color)을 기록한다(write)는 뜻으로 회랍어의 어원을 갖는데, 이는 초기의 실험의 주 대상물질이 식물의 색소 였기 때문이다.

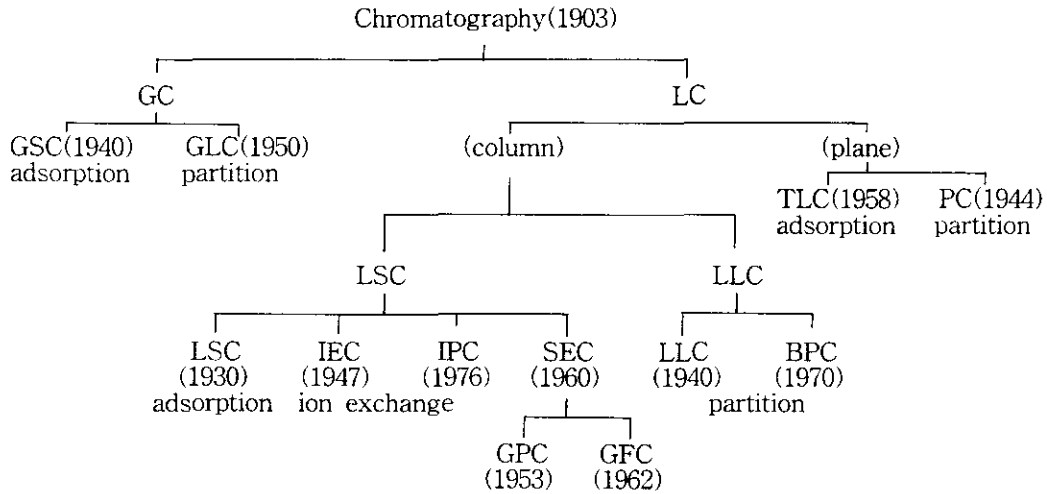


그림1. 크로마토그래피의 분류

1) 크로마토그래피의 분류 및 분리메카니즘

크로마토그래피법은 그 분리 메카니즘에 따라, 혹은 사용한 두 상의 종류에 따라 그 명칭을 붙여 왔다. 즉, 이동상이 기체인 기체 크로마토그래피(Gas Chromatography)와 이동상이 액체인 액체 크로마토그래피(Liquid Chromatography)이다. 이들은 각각 정지상의 상태에 따라 세분되는데, 분류, 약자, 분리 메카니즘 및 등장연대는 그림 1과 같다.

먼저 GC는 정지상의 상태에 따라 GSC(Gas-solid chromatography)와 GLC(Gas-liquid chromatography)로 분류된다. 전자의 분리 메카니즘은 흡착이고 후자의 분리 메카니즘은 분배이다. GSC는 기체-고체의 흡착 평형이 분리과정을 이루며 주로 기체 분석에 이용된다. 흔히 사용되는 컬럼 물질로 silica gel, molecular sieve, charcoal 및 porous polymer등이 있다. GLC에서는 불활성인 고체받침(solid support)에 얹은 막으로 입혀진 액체이며, 따라서 기체-액체간의 분배평형이 분리가 일어나는 바탕이 된다. 많은 종류의 액체상을 이용할 수 있기 때문에 GSC보다 GLC의 활용범위가 넓다.

LC는 실험방법에 따라 관을 사용하는 column법과 판을 사용하는 plane법으로 나뉘는데 전자는 분리성능, 정밀도 및 정확도가 좋으며 정량적인데 반해 후자인 TLC(Thin layer chromatography)와 PC(Paper chromatography)는 비교적 정성적인 분석법으로 이용된다. LC는 정지상의 상태에 따라 LSC(Liquid-solid

chromatography)와 LLC(Liquid-liquid chromatography)로 크게 분류된다. LSC는 다시 정지상의 종류에 따라 분류되는데 정지상이 흡착제인 경우만을 LSC라고 부르며 1930년대부터 발전되어 왔다. 정지상이 이온교환수지인 경우에는 IEC(Ion-exchange chromatography)라고 부르는데, 특히 희토류 원소 분리, 아미노산 분리 등에 큰 공헌을 하였으며 1940년 후반부터 발전해 왔다. IEC와 같이 시료가 이온인 경우 분리된 이온의 검출 예민도를 증가시킬 수 있는 검출기를 이용한 일종의 IEC를 IC(Ion chromatography)라 부르며 비교적 최근에 발전되었다. 정지상이 여러 가지 크기의 다공성을 갖는 겔(gel)을 사용하며 시료 성분의 분자량의 크기에 따라 분리하는 SEC(Size-exclusion chromatography)는 1960년대에 등장했으며 시료가 수용성이냐 비 수용성이냐에 따라 사용되는 겔이 다르므로 전자의 경우 GFC(Gel filtration chromatography)와 후자의 경우 GPC(Gel permeation chromatography)로 다시 분류된다.

한편 LLC는 정지상인 액체상이 지지체에 어떻게 붙어 있느냐에 따라 나뉘는데 왁스와 같은 액체상이 고체 지지체에 물리적으로 흡착되어 붙어 있는 경우를 그냥 LLC라고 부르며 액체상을 지지체에 화학결합으로 붙여 사용하였다고 해서 BPC(Bonded-phase chromatography)라고 부른다. BPC는 1940년대 개발된 LLC에 비하여 1970년대에 개발된 것으로 LC의 모든 방법 가운데서 가장 활용성이 큰 방법이다.

또한 1970년대부터 발전된 IPC(Ion pair chromatography)는 이온쌍이 그 분리 메카니즘이다. IPC는 추출 크로마토그래피, 액체 이온교환 크로마토그래피, 비누 크로마토그래피 및 쌍을 이룬 이온 크로마토그래피로 불려져 왔던 분리 방법을 최신 LC에 맞도록 개선시킨 방법이다. 이것은 특히 유기산 같이 해리가 되어 이온이 되는 시료를 상대이온(counter ion)을 가하여 이온쌍을 이루게 하여 정지상에 이온쌍이 분배되도록 하는 원리이다.

2) 크로마토그램의 해석

(1) 분배계수(partition coefficient, K)

시료분자의 이동상과 정지상에 대한 분배비를 분배계수라고 하며 K라고 표시하는데 K는 각 상에 분배된 시료의 농도비($K=C_s/C_M$)다. 이론적으로 말하면 시료 중 각 성분이 서로 다른 K값을 갖기 때문에 이동 속도가 달라져 서로 각각 분리가 된다. 따라서 이것은 두 상에 대한 시료분자의 평형 문제이다. 그러나 실제로는 시료분자가 컬럼의 상단에 주입된 후 용리가 되는 동안에 K값이 달라진다. 만일 K값이 일정하게 유지된다면 크로마토그램에서 각 성분은 띠모양이 아닌 선 크로

마토그램이 될 것이다. 이상적인 크로마토그램을 기대하려면 시료분자가 컬럼내에 용리될 때 항상 순간적인 평형을 이루어야 하며, 시료분자의 두 상내에서 확산이 없어야 하는데 이렇게 되기 위해서는 컬럼이 이상적으로 충전되어야 한다.

분배계수는 자주 분포계수(distribution coefficient)와 같은 뜻으로 취급한다. 시료의 정지상에 대한 머무름이 흡착일 경우에는 분포계수라고 부르며, 분배계수와 구분하는데 분배계수는 주로 GLC나 LLC에 적당한 표현이다. 분배계수를 크로마토그램에서 얻기 위하여는 몇가지 다른 크로마토그래피 파라미터가 필요하다. 먼저, 머무름비(retention ratio, R)을 생각해 보자.

예를 들어 15cm길이의 컬럼을 통해 용리액이 용리되는 시간이 15분 걸리는 조건에서 어느 시료 성분은 60분 소요됐다고 가정하면 시료의 용리속도는 25%라고 할 수있다. 이같이 어느 시료의 평균 분자들이 이동상에 머무르는 시간의 분율을 머무름 비($R, t_M/t_M+t_S$)로 표시한다. 여기서 t_M 과 t_S 는 시료가 이동상과 정지상에 각각 머무른 시간을 말한다. 따라서 예의 R값은 $R = 15/(15+45) = 0.25$ 이다. 만일 시료가 전혀 정지상에 머무르지 않는다면 이 시료는 이동상이 나오는데 걸리는 시간과 동일할 것이며 R값은 1이 된다.

GC의 공기 피이크나 LC의 용매 피이크에 해당하는 머무른 시간이나 머무른 부피를 시료의 머무름에 조정한 ($t_R - t_M$)과 ($V_R - V_M$)을 t_R' 과 V_R' 로 표시하고 조정된 머무른 시간 혹은 부피(adjusted retention time or volume)라 부른다

(2) 상대적 머무름 (Relative Retention, α)

시료 분자의 머무른 시간(t_R)이나 머무른 부피(V_R)의 절대값은 실제 얻기 어렵다. 왜냐하면 실험조건에 따라 같은 분자의 t_R 이나 V_R 값과 미지의 분자가 갖는 t_R 및 V_R 의 실험값을 비교함으로써 가능하므로 실제로는 다음과 같이 상대적인 머무름의 비(α)를 구하여 정성분석을 한다. α 값으로 비교할 경우는 실험조건이 달라져도 기지의 표준물질의 t_R 및 V_R 에 대한 미지 분자의 비이므로 절대치의 t_R 이나 V_R 측정에서 오는 불확실성을 제거할 수 있다.

$$\alpha = \frac{t_R - t_M}{t_R^* - t_M} = \frac{V_R - V_M}{V_R^* - V_M} = \frac{K}{K^*}$$

물론 α 값을 얻기 위해서는 표준물질을 시료분자와 함께 주입하여 크로마토그램을 얻는 방법을 택한다.

(3) 컬럼효율(Column Efficiency)과 이론 단수(Number of Theoretical Plate, N)

앞에서 기술한 이상적인 컬럼의 제작은 사실상 불가능하며, 따라서 시료 분자는 평형을 이루는 문제나 두상에서의 확산 및 불규칙한 정지상의 모양 및 불완전한 충전으로 일정한 K값을 유지 못할 뿐만 아니라 용리시의 물리적이 과정으로 크로마토그램은 같이 떠를 이루게 된다. 그러나 시료분자에 알맞는 정지상을 택했거나 거의 이상적인 컬럼제작이 가능하게 되면 매우 좋은 크로마토그램을 얻을 수가 있는데 이같은 컬럼은 효율이 크다고 말한다. 좀더 정량적인 값으로 컬럼 효율을 표현하기 위해서 Martin과 Syngge 는 소위“컬럼단이론(plate theory)”을 세웠다. 즉 “컬럼은 수 많은 정지상 입자의단(층)으로 충전되었다”는 개념을 도입하고 이 이론적 단수를 N라 표시하고 N을 컬럼효율의 척도로 이용한다. 실험적으로 N 값은 떠폭, W와 머무른 시간, t_R 을 구한후 아래의 식에서 계산된다. 이때 N은 단위가 없다.

$$N=16\left(\frac{t_R}{W}\right)^2$$

일반적으로 N 값은 컬럼의 효율정도를 정량적으로 표시하는데 이 값이 주어진 실험 조건 즉 일정한 정지상과, 이동상에서 일정한 유속, 온도 및 동일한 시료주입조건에서 거의 일정하다.

만일 t_R 이 일정하다면 N값이 증가됨에 따라 피이크 폭이 좁아지게 되어 좋은 크로마토그램을 얻게 된다. 일반적으로 컬럼효율을 증가시키는 방법은 곧 N값을 크게 하는데 다음과 같이 두 방법이 있다.

1. 컬럼의 길이를 증가시킨다.

그러나 이 방법은 용리시간과 용리피이크의 퍼짐을 고려해야 한다. 예를 들면 컬럼의 길이가 2배가 되면 N도 2배가 되나 t_R 도 2배가 되고 폭 W는 $\sqrt{2}$ 배가 되므로 시간의 문제와 검출기의 검도가 줄어드는 점이 단점이다.

2. 정지상 충전물의 입자크기를 작게 한다.

컬럼단이 이론대로 있다고 하면 N값과 컬럼길이(L)를 알면 가상적인 것이지만 한단의 높이를 계산할 수 있으며 이 높이는 곧 정지상의 입자의 지름과 같다는 뜻이 된다. 물론 실제 입자의 지름과는 다르지만 이높이는 용리결과를 조정하는데 중요한 값이 된다. 이 가상적인 단의 높이를 이론단 해당높이(Height Equivalent to a Theoretical Plate, HETP)라고 부르며 H로 표시하는데 관계식은 다음과 같다.

$$H=\frac{L}{N}=\frac{L}{16}\left(\frac{W}{t_R}\right)^2$$

N값에 영향을 주는 요인을 열거하면 다음과 같다.

1. 컬럼제작 방법
2. 시료의 화학적 및 물리적 특성
3. 이동상인 용매의 유속
4. 분리온도
5. 시료주입 방법

(4) 비이상 크로마토그래피와 속도이론

이상적인 크로마토그래피라고 하면 H값이 거의 0에 가까운 값을 가져야 되는데 실제로 그렇지 못하며 컬럼의 효율이 떨어지고 크로마토그램의 용리 피크의 폭리 넓어지는 이유를 조사하면 대략 3가지로 구분하여 생각할 수 있다.

첫째는 컬럼에 충전된 정지상의 입자가 균일하지 못하고 충전방법에 따라 이동상의 통로가 컬럼 전체적으로 균일하지 못하여 시료 분자의 용리가 달라지는 경우를 생각할 수 있다. 이것을 소용돌이 확산(eddy diffusion)이라고 부른다. 둘째는 시료분자가 컬럼을 통해 용리되는 도중 앞으로나 뒤로 확산되는 현상을 생각할 수 있는데 이 확산을 세로확산(longitudinal diffusion)이라고 부른다. 끝으로 시료 분자가 용리될 때 정상적으로 이루어야 하는 평형이 순간적으로 완전치 못한 평형을 이루기 때문에 기인하는 경우를 고려해야 하는데 이것을 물질전달(mass transfer) 효과라고 하여 네덜란드의 석유화학자인 Van Deemter는 이상 3가지 요인을 고려한 관계식을 유도하였다.

$$H = 2\lambda d_p + 2\psi \frac{D_G}{U} + \frac{8}{\pi^2} \cdot \frac{k'}{(k'+1)^2} \cdot \frac{d_f^2}{D_L} \cdot U = A + B/U + CU$$

여기서 A, B 및 C는 이상의 3가지 요인에 해당되는 계수이며, U는 이동상의 선형유속이다. λ 는 충전물질의 불규칙성의 척도인 상수이고, ψ 은 컬럼에서 이동상의 구부러짐을 나타내는 보정인자이다. d_p 는 정지상의 평균 입자 지름을 말하며, D_G 는 주로 GC에서는 기체상에서 용질의 확산계수를 말하며, d_f 는 고체받침에 입혀진 정지상인 액체상의 두께이고, D_L 는 정지상인 액체상에서의 용질의 확산계수를 말한다. 위 식에서 볼 때 H가 작아지기 위해서는 A항이 작고 B와 C항은 적당한 U를 유지해야 된다. A항이 작아지기 위해서는 역시 정지상의 입자는 작고 균일해야 하며 충전이 잘 되어야 한다.

A항은 대상물질의 종류나 머무름 값 및 이동상의 종류와 유속에 무관하다. 한편 B항을 줄이기 위해서는 이동상의 속도를 크게 해야 확산이 감소되는데 이것은 C항을 크게 하는 요인이 되므로 곤란하다. 그런데 LC에서는 B항을 무시해도

된다. 왜냐하면 액체에서의 확산은 기체에서의 확산의 약 10만분의 1밖에 되지 않기 때문이다. 그러나 GC에서는 이동상인 기체상에서의 확산효과가 크기 때문에 B항의 기여가 크다. 그러므로 GC에서 이동상 자체만을 고려한다면 D_G 가 적은 N_2 나 Ar이 H_2 나 He 보다 더 좋은 이유가 여기에 있다. 그러나 N_2 의 H 와 U 곡선을 보면 작은 U 에서는 H 가 작으나 U 가 커지면 H 가 급격히 커지므로 U 증가에 따라 H 증가율이 적은 He이 역시 좋은 이동상이 된다.

마지막의 물질전달의 효과인 C항의 경우는 앞에서 기술한 바와 같이 비평형에 기인한 것인데 C항에 영향을 주는 요인들로서는 정지상의 기하학적 구조, 분배계수, 두 상에서의 확산 속도 등이다. 두 상사 이에 용질 이동에서 이동상의 이동에 비해서 액체상 속의 이동이 뒤지는 결과가 일어나 봉우리의 폭을 넓히는 결과가 된다. 그러므로 C항을 줄이는 방법으로는 온도를 높이고 정지상막의 두께를 줄여, 정지상속에서 용질의 확산을 크게하고, 정지상 액체의 점성을 낮추어 좋은 결과를 얻게 한다. Van Deemter 식에서 보는 바와 같이 이성의 실험조건이 결정된 후에 최종적으로 결정해야 할 것은 이동상(혹은 용매)의 유속이다.

(5) 분리도(Resolution, R_s)

분리도(resolution)는 인접되는 성분들간의 분리된 정도를 정량적으로 나타내는 값이다. 가장 좋은 분리결과라고 하면 R_s 값이 큰 것을 의미한다. 즉 큰 N 값, 작은 H 및 좁은 피이크 폭 W 를 갖는 크로마토그램을 보여주어야 한다.

일반적으로 R_s 값을 측정하는데 두가지 방법이 있다. 첫째는 한 성분의 피이크가 완전히 바탕선(base line) 까지 내려온 후 다른 성분의 피이크가 생긴 경우인데 다음 식으로 계산한다.

$$R_s = \frac{2(t_{R_2} - t_{R_1})}{W_1 + W_2}$$

R_s 값이 1.5이상일 경우를 완전분리 혹은 바탕선 분리라고 부르며, 1.0인 경우는 두 성분이 각각 2%씩 중첩되어 있는 상태의 분리를 의미한다. 그러나 서로 성질이 비슷한 성분들을 용리할 경우 R_s 가 1.0되기는 비교적 어렵다.

둘째는 R_s 가 1.0이하로 분리된 크로마토그램에서 R_s 를 측정하는 방법이다. 이 경우는 대략적인 R_s 만 추정할 뿐 정확한 R_s 를 계산하기는 어렵다. 실제로 사용하는 방법은 대표적인 두 표준물질을 선택하여 여러 R_s 값을 가졌을 때의 크로마토그램을 만들어 표준분리도 곡선으로 택한 후 미지 시료의 크로마토그램을 표준곡

선과 비교하여 가장 비슷한 곡선의 R_s 값을 미지시료의 R_s 값으로 추정한다.

한편 분리도는 두 성분의 농도비에 따라 그 모양이 매우 달라진다. 같은 R_s 값에서도 농도비가 클수록 분리곡선이 모호해진다. 따라서 크로마토그램을 정확히 해석하고 평가하기 위해서는 결론적으로 R_s 값이 작은 분리결과를 얻었을 때 어떻게 실험조건을 조절하여 좋은 분리를 얻느냐 하는 것은 크로마토그래피의 중요한 과제이다. 이를 위한 일반적인 원칙을 알고 있으면 쓸데없는 시행착오식의 실험을 피할 수가 있어 시간적으로나 경제적으로 유익하다.

분리(R_s)에 영향을 주는 기본 요인은 분리인자(α), 이론단수(N) 및 크기인자(K')인데 이들은 서로 독립적으로 R_s 값에 영향을 준다. 따라서 분리도를 결정 짓는 관계식은

$$R_s = \frac{1}{4}(\alpha - 1)\sqrt{N}\left(\frac{k'}{1+k'}\right)$$

와 같다. 식 (14)는 R_s 값이 1.0이하일 경우에 적용되는 것으로 두 성분의 머무른 시간이 거의 비슷하고, 용리매의 나비(W)도 비슷하다고 가정하고 유도한 식이다. 각 항을 조절하기 위한 실험조건을 주로 LC에 관하여 간단히 요약하면 다음과 같다.

1. α 항: 주로 이동상(용매)의 조성
2. N 항: 컬럼길이, 이동상의 유속, HETP 값
3. K' 항: 용매의 강도(solvent strength)

(6) LC에서는 분리도에 미치는 K' , N , α 의 영향

분리도를 증대시키기 위하여 K' , N 및 α 를 변화시키는 경우, 예를 들어 K' 를 감소시키면 A와 B의 중첩이 더욱 심해져 R_s 값이 감소된다. K' 를 증가시키면 R_s 가 증가되어 분리는 좋은데 머무른 시간이 증가되며 용리곡선이 완만해져 검출기의 감도가 줄어드는 점을 고려해야 한다.

한편 N 을 증대시키면 R_s 가 증대되면서 머무른 시간도 단축되고 용리 피이크도 커진다. 가장 바람직한 변화는 α 가 증대되었을 때다. 왜냐하면 머무른 시간의 용리 피이크의 변화가 거의 없고 A와 B의 중첩의 염려도 없기 때문이다. 그러나 α 중 가장 효과적인 변화를 주어야 한다.

가. 분리도와 크기인자(k')

분리도 관계식 (식14)에서 α 와 N 가 일정하다고 하면 R_s 는 k' 값에 따라 변한

다. 따라서 k' 이 변하는데 따라 R_s 는 ($\frac{k'}{1+k'}$)에 비례한다. 그런데 k' 가 0에서 무

한대까지 변할 때 $\frac{k'}{1+k'}$ 은 0에서 1.0이므로 실제로 k' 값의 변화가 R_s 증대에

영향을 미치는 범위는 대략 $1 \leq k' \leq 10$ 이다. 앞에서 기술한 바와 같이 k' 를 크게 하려면 용매의 강도를 줄여 약한 용매(weak solvent)를 써야하며 k' 값을 줄이려면 강한 용매(strong solvent)를 써야한다.

한 용매에서 비교적 k' 을 크게 갖는 성분들과 반면에 작은 k' 값을 갖는 성분들이 혼합된 경우는 일정한 용매로서는 바람직한 용리가 어렵다. 따라서 전 성분이 적절한 k' 값을 가지며 분리시간도 적당한 용리를 위해선 용리도중에 용매를 바꾸어 용리시키는 방법을 취해야 한다. 전자와 같이 일정한 용매로서 처음부터 끝까지 용리시키는 경우를 등용매용리(isocratic elution)이라고 하고 후자와 같이 k' 값이 작은 성분들을 약한 용매로 용리시키고 k' 값이 큰 성분들은 강한 용매로 바꾸어 용리시키는 것을 기울기 용리(gradient elution)이라고 부른다.

나. 분리도와 이론단수(N)

분리도를 증대시키기 위한 실험조건을 비교적 원칙에 따라 할 수 있는 인자는 이론단수(N)이다. 그러나 N를 증가시켜 R_s 를 증대하는 데는 N에 영향을 주는 실험조건인 L, P, t, U 및 H를 함께고려해야 한다. 이상의 실험조건과 N과의 상호관계는 다음과 같다.

$$U \propto \frac{P}{L}$$

$$t \propto \frac{1}{P}$$

$$t \propto L^2$$

이상의 관계식으로부터 N증대 즉 R_s 증대를 위한 실험조건의 예를 들어보면 표1과 같다.

표 16에서 보듯이 일반적으로 N을 증대시키는 방법은 3가지로 요약할 수 있다. 즉 ①컬럼길이(L)를 고정시킨 경우는 컬럼압력을 감소시키는 방법 ②컬럼압력(P)을 고정시킨 경우는 컬럼길이를 증가시키는 방법 ③분리시간(t)을 고정시킨 경우는 L과 P를 동시에 증대시키는 방법이다.

N을 증대시키는 것은 곧 R_s 를 증대시키는 방법이 되므로 R_s 와 관련하여 상기

3가지 방법을 이용하는 표를 작성했다. 즉 어떤 작은 R_s 를 갖는 초기상황에서 원하는 R_s 를 얻기 위해선 4가지 방법이 있는데 그 방법을 설명하는 도표가 있다.

표 16. Increasing N in various ways in order to increase R_s

procedure	L(cm)	P(psi)	t(sec)	U(cm/sec)	H(cm)	N
Initial separation	100	10^3	150	2, 0	0.156	640
Decrease P(L=const)	100	180	840	0.36	0.078	1,280
Increase L(P=const)	164	10^3	405	1.22	0.128	1,280
Increase L and P(t=const)	320	10^4	150	6.4	0.247	1,280

다. 분리도와 분리인자(α)

앞에서 이미 기술한 바와 같이 분리도를 증대시키는 인자로서 α 는 매우 좋은 결과를 보여 주지만 불행히도 실질적으로는 규칙성 있는 원칙이 없다. 왜냐하면 α 의 변화는 두 상의 조성을 달리해야하는 하는 번거로운 실험이 수반되기 때문이다. 예를 들어 이동상만 바꾸는 경우를 보면 표2와같다.

두 naphthlene 유도체를 분리하기 위하여 선택한 용매A는 두 성분의 k' 값이 비슷하여 α 가 1.05밖에 안되므로 R_s 값이 작고 중첩이 심하다. 그러므로 α 를 증가시키는 방법으로는 k' 의 변화가 크지 않은 조건에서 용매의 조성이 다른 B용매를 사용하면 k' 값의 차가 심해지고 따라서 α 가 증대되었으며 분리도도 증가된 결과를 볼 수 있다.

표 17. LSC separation of two compounds on silica

Sample compound	k'	
	Solvent A	Solvent B
Acetonaphalene	5.5	2.3
Dinitronaphthalene	5.8	5.4
α	1.05	2.04

A : 23% methylene chloride/pentane.

B : 5% pyridine/pentane

라. 분리도에 미치는 기타 인자

분리도 값을 변화시키는 인자로써 k' , N 및 α 이외에도 고려할 수 있는 인자로서는 분리시간(separation time, t)과 컬럼압력(column pressure, P)이 있다. 이와 관련된 관계식은 다음과 같다.

$$N_{eff} \propto P^{(1-n)/2} t^{(1+n)/2}$$

N_{eff} 는 유효이론단수(effective plate number)라고 부르며 $N \times (\frac{k'}{1+k'})^2$ 의 뜻을,

갖고 있다. N_{eff} 증가되면 곧 R_s 가 커지는 것인데 대부분의 실험조건에서 n 값은 0.4이므로 N_{eff} 는 $t^{0.3}$ 에 비례하고 P 가 일정할 때 N_{eff} 는 $t^{0.7}$ 에 비례한다.

만일 컬럼압력이 어느 상태보다 10^4 배 증가 했다면 N_{eff} 는 16배가 되고 시간은 100분의 1로 감소가 된다. 즉 압력이 높을수록 R_s 는 증대된다는 뜻이다. 고전 LC에서 압력은 보통 0.5psi인데 최신 LC에서는 보통 5,000psi가 된 이유가 여기에 있고 최신 LC를 HPLC라고 부르고 P 를 압력으로 쓰는 이유도 여기에 있다. P 가 10,000에서 20,000psi까지 가능한 LC기기도 있으나 이같은 높은 압력을 유지하게 하는데는 기기, 기술상의 문제가 있어 보통시판의 LC는 5,000psi정도의 압력조절이 가능하게 되어 있다.

N_{eff} 가 아무리 커도 시간이 고려되지 않고서는 분리성능을 생각할 수 없다. 따라서 단위 시간당 유효이론단수값이 컬럼효율을 고려할 때 중요하다. 단위시간당 유효이론단수의 관계식은 다음과 같다.

$$\frac{N_{eff}}{t_R} = \frac{(k')^2}{(1+k')^3} \cdot \frac{U}{H}$$

여기서 최적조건의 k' 값은 $1.5 \leq k' \leq 5$ 정도이다.

한편 머무른 시간과 분리도와의 관계식은 다음과 같다.

$$t_R = 16 R S^2 \left(\frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2 \frac{(1+k')^3}{(k')^2} \cdot \frac{H}{U}$$

(7) GC에서의 분리도 증대

가. 운반기체의 속도와 컬럼의 길이

H를 최소로 하는 운반기체의 속도 U_{opt} 를 H vs. U곡선을 작성하여 얻어 Rs를 증대시키는 실험조건을 결정한다.

분리도는 컬럼의 길이(L)의 제곱근에 비례하며 HETP는 k' 와 α 처럼 길이에 무관하다. H가 길이의 함수라는 것을 지적하는 문헌이 있다. 이러한 가능성은 오직 높은 운반기체속도 즉, 높은 주입구의 압력에서 가장 중요하다. 그래서 분리도를 두배로 하기 위해 컬럼길이는 4배로 증가하여야 한다.

일정한 주입구 압력에서 길이의 증가는 머무른 시간의 증가를 가져온다. 만약 Van Deemter 의 곡선(H vs. U)이 완만하다면 운반기체속도와 컬럼길이를 증가할 수 있다. 이러한 조작은 분리도를 향상시키고 분석시간을 줄일 수 있다. 그러나 HETP의 증가는 U가 증가하는 것처럼 클 때, 컬럼의 길이는 분리도를 증가시키기 위하여 변화되어야 한다. 여기에서 제한된 요인은 컬럼에 필요한 압력강하나 장시간의 분석시간이다.

나. 정지상의 양

H와 k' 는 정지상의 양에 대한 함수이고 두 양은 정지상의 부피인 V_L 을 감소시킴으로 감소시킬수 있다. V_L 을 감소시킴으로써 U_{opt} 은 증가하고 따라서 분석시간은 짧아진다. 그러나 정지상이 매우 적으면 고체받침이나 모세관 컬럼의 안벽이 완전히 피복되지 않은 상태가 되어 용질의 흡착이 일어나게 되므로 컬럼효율이 저하된다. 이것은 분배와 흡착이 일어나는 혼합된 머무름 메카니즘의 한 예이다.

앞의 식에서 k' 의 감소는 분리도의 감소에 미치는 영향이 크다. 특별히 낮은 k' 값을 갖는 용질은 식14의 C항에 의해 H의 감소를 가져다 주어, 분리도를 향상시킨다. 그래서 분리도에서 H와 k' 는 서로 역의 관계가있다. 따라서 V_L 의 함수로써 분리도의 영향은 k' 와 H에서 상대적 크기에 의존한다.

고체받침인 Chromosorb W나 P를 사용할 때 최적의 액체상량은 15%이나 Chromosorb G는 좀더 낮다. 처리되지 않은 유리구슬의 경우에는 최적조건이 0.1%이나 이보다 더 낮아서 좋은 결과를 얻은 경우도 보고되었다.

모세관 컬럼의 경우는 최적 막두께는 대략 $0.4 \sim 1\mu\text{m}$ 정도이다. 이런 결과는 상세하게 Grushka에 의해 보고되었다. 고체받침에 정지상의 균일한 분배문제는 알려지지 않기 때문에 V_L 과 d_f 를 관련시키는 것은 어렵다. 모세관컬럼에서 일정하게 피복되었다면 d_f 를 구할 수 있다.

다. 고체받침의 크기

H는 d_p 의 함수임에 분명하다. 또한 상수 λ 는 고체받침에 의존하는 충전물질의 기하학적 구조에 관련되어 있기 때문에, d_p 의 간접적인 함수이다. 일반적으로 고체받침의 크기가 작으면 작을수록 컬럼을 더욱 잘 충전시킨다. 컬럼의 반경과 d_p 의 비는 충전의 잘됨을 결정해준다. 평상의 조건에서 100~200mesh 입자들로 충전된 컬럼은 60~80mesh보다 효율이 좋다. 이 것은 HETP의 d_p 의존성과 컬럼에서 더 큰 틈새부피(void volume)를 제거하는데 도움을 주기 때문이다.

100~120mesh는 60~80mesh보다 더 좁은 입자의 크기 범위를 가지게 되어 컬럼에 잘 충전되고 한편 컬럼 효율도 더 좋아진다. d_p 의 변화는 α 를 변화시키지 않는다. 그러나 고체받침의 표면적이 d_p 와 함께 변할 수 있고, 이로 인해 고체받침에 피복된 정지상의 양이 막 두께를 변화시키므로 k' 이 변한다. 즉 주어진 정지상의 양에 대해서 고체받침의 크기를 감소시키는 것은 d_p 를 감소시키고, HETP를 감소시킨다는 뜻이다. 모세혈관 컬럼의 지름을 감소시키는 것은 효율을 증가시키는 요인이다. 결과적으로 d_p 가 감소되거나 모세관컬럼의 지름을 감소시키므로 분리도를 향상시킨다.

한편 사용할 수 있는 입자크기의 한계는 일정한 압력과 주어진 유속에서 d_p 가 감소함에 따라 압력이 증가되어야 하기 때문에 제한을 받는다.

라. 분리도와 온도

α , K , D_L , D_G 및 U 모두가 온도의 함수이기 때문에, 분리도 또한 온도의 함수이다. 확산계수는 온도상승에 비례하고, K 와 머무른 시간간은 반비례한다. 온도가 상승하면서 α 가 증가하는 예도 많다.

HETP의 온도에 대한 의존성은 가장 복잡하다. 일반적으로 H는 정지상에서 물질전달의 저항(C항)에 크게 영향을 받을 경우에, 충전된 컬럼에서 온도를 감소시키면 H는 감소한다. Halasz와 Heine은 온도에 있어서 HETP 감소를 보여주는 몇가지 예를 보여준다. HETP의 온도변화에 대한 반비례 관계는 C항이 우세할 때 관찰될 수 있다. HETP의 온도 의존성은 Habgood와 Harris에 의해 보고된 바가 있다.

대부분의 경우 k' 와 α 는 온도상승과 함께 감소하기 때문에 분리도는 온도를 낮게 함으로써 향상시킬 수 있다. 이것은 특별히 $\alpha=1.0$ 인 경우에 찾아볼 수 있다.

다. 고체받침과 컬럼의 처리

고체받침이나 컬럼 벽의 활성자리와 용질과의 흡착 때문에 꼬리 끌기 현상이 일어나서 분리도가 감소하는 경우가 있다. 이같은 현상을 막기 위해서는 hexamethyl disilazane 혹은 dimethyl dichlorosilane 같은 시약으로 고체받침을 처리한다. 또한 금속불순물을 제거하기 위해 산과 알칼리로 씻어서 고체받침을 처리하는 경우도 있다.

오늘날 유리모세관 컬럼의 사용은 생물학적 시료 분석에 잘 활용되고 있다. Novotny는 정지상의 균일한 막을 얻기 위해, 다시말해 더 좋은 효율과 분리도를 얻기 위해 유리표면 위에 $-SiOH$ 작용기를 비활성화시키는 연구를 제시하였다.

바. 컬럼의 길이와 온도 변화

분리도를 증가시키면서 분석시간은 일정하게 유지시키기 위해 두 개의 조건을 변화시키는 경우가 있다. 예를 들면 컬럼의 길이와 온도를 동시에 변화시킬 수 있다. 혹은 정지상의 양이나 운반기체 속도와 온도 역시 동시에 변화시킬 수 있다. Grushka 등에 의해 보고된 연구에서 두 개의 파라미터를 변화시킴으로써 분리도를 최적으로하고 일정한 분석시간을 유지시킬 수 있다는 것을 보였다. 한 예는 컬럼 길이와 온도이다. 주어진 시간에 분리도를 최대로 하기 위하여 필요한 컬럼 길이와 온도의 계산을 쉽게 할 수 있다.

3) 이동상

이동상은 GC에서는 운반기체(carrier gas) 혹은 이동기체라 부르고 LC에서는 보통 용매(solvent)라고 부르며, 용리법을 고려하여 용리액(eluent)이라고 부른다. 특히 용매라고 부를 때는 일반적으로 부르는 용매-용질의 용매와 혼동이 없어야겠다.

(1) 운반기체

GC에 사용되는 운반기체는 다양하지 않다. GC에 사용되는 운반기체는 용질이나 액체상과의 반응이 없는 비활성이어야 하고 Van Deemter식에서 설명한 바와 같이 기체의 확산을 최소로 줄일 수 있어야 하고 (운반기체의 분자량이 클수록 좋다.) 그 값이 싸고 사용되는 검출기에 적합해야 한다. 예로 TCD에서는 열전도도 값이 큰 기체를 선택하는 것이 좋다.

위와같이 조건을 만족시켜 주는 것으로 흔히 쓰이는 기체로 수소, 헬륨 및 질소 등이 있다. 일반적으로 흔히 고압기체 시린더가 운반기체의 공급원이 되며, 균

일한 압력을 유지하여 일정한 속도의 기체 흐름을 얻기 위해 압력 조절장치가 사용된다. 또한 검출기에 따라 운반기체의 순도 및 불순물의 성분과 함량이 다르지만 운반기체에 포함된 수분, 입자, 산소 및 탄화수소 등의 불순물을 제거하기 위해 분자체(molecular sieve)나 실리카 겔의 트랩(trap)을 부착해서 사용하는 것이 보통이다.

압력 조절장치에 의해 조절된 운반기체의 유량의 선택은 운반기체의 유속변화에 따르는 HETP를 실제 크로마토그램에서 계산하여 도시하면 실험적으로 주어진 조작조건 및 용질에서의 최적유속(최소의 HETP에서의 유속)을 쉽게 측정할 수 있다. 실험적인 조작조건 및 용질이 같은 경우에 운반기체의 종류에 따라 최적유속은 다르다.

그 결과에서 다른 운반기체의 것에 비해 질소의 최적유속은 가장 작은 값을 보여주고 HETP값도 가장 낮은 값을 나타내나, 유속의 증가에 따라 HETP값이 급격한 변화를 보여주고 있다.

최소 HETP값을 나타내는 일반적인 원칙은 사용하는 컬럼의 지름크기 등에 따라 다르다. 외경이 1/4인치인 컬럼에는 75ml/min, 1/8인치인 컬럼에서는 25ml/min의 운반기체의 속도가 보통이다. 유속을 측정하는 가장 간단한 방법은 비누방울 유량계(soapbubble flowmeter)와 초시계를 사용한다.

(2) 용매

액체 크로마토그래피에서 특히 LSC, LLC, BPC 및 SEC 등에 흔히 쓰이는 이동상은 보통 사용되는 용매들이다. 그래서 이동상을 용매라고 부르는 것 같다. 모든 용매가 LC에 쓰이는 이동상인 용매가 될 수는 없다. 따라서 LC에 쓰이는 용매가 되기 위해서는 몇가지 요건이 있다. 첫째, 물리적 성질이 적합하여야 하는데 예를 들면 끓는점, 점도, 섞임도(miscibility), 독성 및 검출기에 맞는 적응도 등이 다.

둘째는 시료 각 성분을 적당히 용리시킬 수 있는 용매가 되어야 한다. 즉 시료의 k' 값이 $1 \leq k' \leq 10$ 정도가 되는 용매의 강도가 되어야 한다. 즉 일반적으로 용매강도(solvent strength)가 크면 시료의 k' 을 감소하고 시료는 빨리 용리된다.

셋째는 기료 각 성분에 대한 용매의 선택성이 있어야 한다. 즉 각 성분의 k' 값이 최적조건에 있으면서 상호간의 차이가 있어 α 값이 커서 분리가 되어야 한다는 뜻이다. 표2에서 용매 A는 두 번째의 조건을 만족하는 용매이나 성분 분리가 곤란하다. 그러나 용매 B는 용매강도도 적당하고 선택성이 있어 더 좋은 용매가 된다.

이상의 세 가지 조건은 LC에서 적당한 용매를 선택하는 요령이 된다.

가. 용매강도

용매강도는 용매의 극성(polarity)으로 표현되는데 Rohrschnider 가 제안한 실험적 용해도 값인 극성 파라미터(p') 값으로 용매강도를 예측한다. 또한 흡착 LC에서의 실험값에 기준을 둔 용매강도 파라미터(ϵ°)를 사용하기도 하고 Hildebrand 용해도 파라미터(δ)를 사용하기도 한다.

용매강도는 이상에서 소개한 p' , ϵ° 및 δ 등으로 각 용매의 극성값으로 나타내는데 여기서 극성이란 다음에 소개하는 용매-용질간의 상호작용에 근거를 둔 것이다.

1. 분산(dispersion)
2. 쌍극자(dipole)
3. 수소결합
4. 시료분자와의 유전작용(dielectric interaction)

표3에서 수록된 용매는 비교적 LC에서 쓰이는 것으로 Al_2O_3 에 대한 용매강도 파라미터(ϵ°)를 보면 각 용매의 극성도를 비교할 수 있다. LC에서는 점도가 또한 중요한 역할을 한다. 또한 흔히 쓰이는 검출기가 굴절을 검출기(RI)와 자외선 검출기(UV)인 경우의 각 용매의 고려점을 제시하였다.

용매의 극성 파라미터(p')를 고려하여 극성 혹은 용매강도를 비교하는 경우가 흔히 있는데 어떤 한 시료성분의 k' 값은 사용한 용매의 p' 값과 직접 관계가 있다. 따라서 p' 을 달리하는 용매로 바꾸어 주면 시료성분의 k' 이 변한다. 예를 들어 용매(1)의 p' 을 p'_1 , 용매(2)의 p' 을 p'_2 라고 하면 두 용매로 인한 시료성분의 k' 의 변화 즉 k'_1 과 k'_2 의 관계는 정상 LC에서 다음과 같다.

$$\frac{k'_2}{k'_1} = 10^{(p'_1 - p'_2)/2}$$

한편 역상 LC에서는

$$\frac{k'_2}{k'_1} = 10^{(p'_2 - p'_1)/2}$$

와 같다.

한편 혼합용매인 경우의 p' 값은 산술평균으로 계산되는데

$$p' = \phi_1 p'_1 + \phi_2 p'_2$$

와 같다. 여기서 ϕ_1 와 ϕ_2 는 두 용매의 부피분율이다.

시료의 각 성분들이 적당한 k' 값으로 용리되더라도 상호 분리가 되려면 용매가 선택성을 갖어야 한다. 만일 혼합용매 A/B로 성분 X와 Y를 분리시켜 본 결과 X와 Y의 k' 값은 적당한 범위에 들지만 그 차이가 작아 분리가 어려울 때는 B용매를 C용매로 바꾸어 A/C 혼합용매로 할 경우 A/C혼합용매가 X와 Y에 대해서 선택성이 있게 되면 두 성분은 잘 분리가 된다. B를 C로 바꾸어도 용매의 강도는 그다지 변화지는 않아야 한다. 용매B와 C의 관계는 성질이 서로 달라야 한다. 용매 C와 용매 B와의 관계식에서 원하는 용매 C의 부피 퍼센트를 다음과 같이 계산할 수 있다.

$$\psi_C = \psi_B \left(\frac{p'_B}{p'_C} \right)$$

이 경우는 정상 K에서 고려되는 식이다.

나. LC에서의 정상과 역상

액체 크로마토그래피의 발전과정을 보면 고정상은 보통 극성이고 이동상은 비극성이 일반적이었다. 그러나 최신 LC에서는 이와 반대의 시스템을 더 많이 쓰고 있다. 전자 즉 이동상이 비극성이고 고정상이 극성인 경우를 정상 용리(normal elution)라고 하고, 이와 반대의 경우를 역상 용리(reversed-phase elution)라고 부른다. 이 두 용리법의 특성의 차이를 정리하면 표3과 같다.

4) 컬럼 및 정지상

컬럼이라고 하면 크로마토그래피에서 분리관을 의미한다. 따라서 정지상을 충전시키는 관전체를 말하며 GLC, LLC, BPC 같이 정지상이 액체인 경우는 정지상을 지지하고 있는 고체 받침까지 모두를 의미한다. 어떤 경우는 정지상을 의미할 때도 있다. GC와 LC의 경우를 나누어 간단히 설명하겠다.

표 18. Normal vs. reverse phase

	Normal phase	Reverse phase
Packing polarity	High	Low
Solvent polarity	Low to medium	Medium to high
Sample elution order	Least polar first	Most polar first
Effect of increasing solvent polarity	Reduces elution time	Increased elution time

가. GC의 컬럼

컬럼의 재질은 구리·스테인레스강, 알루미늄, 니켈 및 유리 등을 사용하여 그 모양은 직선형, 굽은 형태 및 나선형 등의 형태로 사용한다. 구리관은 값이 싸나 아민류, 아세틸렌 및 테르펜류(terpenes) 및 스테로이드 등과 반응이나 흡착을 하므로 이런 화합물에는 적합하지 않다. 또한 반응이 큰 시료나 극성물질 및 열분배되기 쉬운 물질의 분석에는 유리관을 사용하는 것이 좋다. GC에 사용되는 컬럼은 크게 두가지로 나눌 수 있는데 하나는 충전된 컬럼(packed column)이고 다른 하나는 모세관(capillary) 또는 속이 뚫린 컬럼(open tubular column)이다. 분석용 충전된 컬럼은 바깥지름이 1/8인치 또는 1/4인치이며, 3내지 10피트인 것이 보통이고 대개 피트당 300내지 1000의 이론단수를 갖는다. 또한 전체의 이론단수는 10,000이하이다. 모세관 컬럼은 세가지 형태로 나눌 수 있는데 하나는 컬럼의 안벽이 고체받침의 역할을 하는 wall-coated open tubular column (WCOT 컬럼)이고 다른 하나는 컬럼의 안벽이 흡착제의 한 층으로 피복된 porous-layer open tubular column (PLOT 컬럼) 및 packed column의 충전물질로 채워져 있는 support-coated open tubular column (SCOT 컬럼)이다. WCOT컬럼은 안지름이 0.25내지 0.5mm이며 액체상의 막 두께는 $1\mu\text{m}$ 이고 길이는 150m 정도이다. 또한 WCOT컬럼의 이론단수는 피트당 300내지 1,300이고 전체의 이론단수는 600,000정도가 된다.

충전된 컬럼의 길이나 전체의 이론단수에 비해 WCOT컬럼에서는 길이도 길고 이론단수도 커지는 이유는 운반기체의 투과도가 10내지 100배 정도 크기 때문이

다.

그러나 반면 컬럼에 주입할 수 있는 시료의 양은 제한을 받는다. 일반적으로 컬럼의 지름이 커지면 분자확산이나 소용돌이 확산 효과에 의해 분리도가 떨어진다.

가) 고체받침(Solid Support)

고체받침의 역할은 GLC컬럼에서 액체상의 일정한 두께의 막을 지지해서 넓은 표면적을 제공하는데 있다. 따라서 고체받침의 특성은 용질과 화학적 반응이나 흡착 등이 일어나지 않도록 활성이 없어야 하고 좋은 기계적 강도와 넓은 표면적을 가지며, 컬럼에 효과적으로 충전하기 위해 균일한 크기와 일정한 모양을 갖는 입자로 구성되는 것이 이상적이라고 하겠다.

규조토로 만들어진 Chromosorb P (또는 Gas chrom R)와 Chromosorb W (또는 Anakrom ABS나 Gas chrom Q)가 가장 흔히 사용되는 고체받침이다. 각 제조회사별 고체받침의 상품명과 정제방법은 표5에 실었다.

Chromosorb P(분홍색)는 동공지름(pore size)이 $2\mu\text{m}$ 정도이고 기계적인 강도가 좋고 표면적이 크고 무극성 화합물의 분리에 적당하다.

Chromosorb W(백색)는 동공지름이 $9\mu\text{m}$ 정도이고 기계적인 강도가 나쁘며 표면적은 적고 반응성이 적어 극성화합물 분리에 적합하다. 특수한 고체받침으로 glass bead 및 halocarbon이 부식성 물질의 분석 등에 사용된다. 사용하는 고체받침의 크기는 컬럼의 외경에 따라 다르다. 예로 1/8인치의 컬럼에는 100/120메쉬를 사용하고 1/4인치의 컬럼에는 60/80메쉬가 좋다. 컬럼효능을 증가시키기 위해 컬럼의 유효내경은 고체받침의 크기에 비해 적어도 8배이어야 한다.

고체받침과 시료분자와의 상호작용으로 봉우리의 꼬리끌기 현상이 일어난다. 이를 방지하기 위해 고체받침을 산처리하여 철 등의 무기불순물을 제거하여 표면에서의 흡착을 방지하여 준다. 이와같이 산처리한 고체받침은 무극성 화합물의 분석에 적합하다. Chromosorb P나 Chromosorb W는 주성분이 산화규소(89%이상)로 되어 있다. 따라서 고체받침의 표면에는 실란올(Si-OH)기가 있어 극성용질에서 고체받침에 대해 액체상의 약(<5%)이 작은 경우에는 실란올기와 극성화합물간의 수소결합에 의해 심한 꼬리끌기현상(tailing)이 일어난다. 이를 방지하기 위해 고체받침의 실란올기를 DMCS(dimethyl dichloro silane) 혹은 HMDS(hexamethyl disilazane)와 반응시켜 실릴기(silyl)로 전환시킬수 있다.

고체받침의 실란올기를 비활성화시키는 방법으로 에스테르, 히드록시나 아민기를 가진 극성액체상으로 처리한다. 이런 작용기와 고체받침의 활성자리가 수소결

합에 의해 비활성화된다. 흔히 사용하는 방법으로 silanization이며 이런 고체받침에 대해 액체상의 양은 10%까지 사용할 수 있다.

나) 액체정지상

GLC에서 분석시료에 따라 올바른 액체상을 선정해서, 사용해야 그 목적을 달성할 수 있다.

흔히 사용되는 액체상은 다음과 같은 특성을 갖는 것이 바람직하다.

(1)분리시키고자 하는 용질들이 액체상에 적당한 분배계수를 가져야 하며 그 분배계수는 서로 달라야 한다. (2)기기 조작온도에서 액체상의 증기압이 수은주로서 0.1mm이하이어야 한다.

그렇지 않으면 액체상이 빠져나오는 현상때문에 컬럼의 수명이 짧아지고 검출기의 오염을 가져오며, 크로마토그램에서 분석오차를 가져다 준다. 그래서 액체상은 (3)열적으로 안정해야 하며 (4)시료성분과 반응해서는 안된다. 예컨데 알데히드 화합물의 분석에서 FFAP액체상(polyethylene glycol과 terephthalic acid와의 반응생성물)을 사용하면 강한 흡착이 일어난다.

성질이 다른 수백 종류의 액체상이 GLC에 널리 사용되어 왔다. 그래서 GC에서는 GLC가 다양한 응용에 이용되어 온 것이다. 그러나 많은 액체상을 이용할 수 있다는 사실은 특정 분석시료에서 알맞는 액체상을 선정하는데 많은 문제점을 주고 있다. 알맞는 액체상을 선택하기 위해 이론적인 바탕을 이루고 있는 방법은 없다. 따라서 문헌을 참고해서 분석을 하는 것이 가장 용이하다. 참고문헌도 이용하지 못하는 경우에는 선택성있는 액체상을 선택하여 분석을 시도해야 한다. 이런 문제를 해결하기 위해 액체상의 선택에서 어느정도 합리적인 방법을 알아둘 필요가 있다. 액체상의 선택성이란 두 용질의 상대 머무름을 나타낸다. GC에서의 분리과정은 용질사이의 끓는점, 분자량 및 화학적 구조의 차이에서 가능하다.

용질의 머무른 시간은 주어진 조작조건에서 분배계수에 크게 의존하며, 이 분배계수는 액체상의 성질에 관련된다. 이들 분배계수는 너무 작거나 너무 커서는 안된다. 작은 분배계수를 갖는 용질은 머무른 시간이 짧아서 분리가 되지 않으며, 반면에 분배계수가 너무 크면 용질의 머무른 시간이 너무 오래 걸리기 때문이다. 용질이 컬럼에서 적당한 머무른 시간을 갖기 위해서는 용질이 액체상에 용해도를 가져야 하기 때문에 용질과 액체상의 극성이 유사해야 한다. 따라서 용질과 액체상의 상호작용을 이해함으로써 액체상의 선택에 도움을 준다. 그러므로 용질간의 상대 휘발성 또는 분리인자 (α)는 용질과 액체상의 상호인력 즉 Van der Waals 힘에 의존된다. 이 분자간의 힘은 London dispersion force, Debye induction

force 및 Keesom orientation force 로 세분할 수 있다. 예로서 파라핀동족체의 분리에는 squalane과 같은 무극성 액체상을 사용하면 분리가 잘 되며, 각 성분의 끓는점의 순서대로 용리된다. 이 경우의 인력은 London dispersion force 로 설명할 수 있다. 한편 polyethylene glycol과 같은 극성인 액체는 알코올 동족체의 극성화합물을 분리하는데 보다 효과적이며, 용리순서는 각 성분의 끓는점의 차례로 머무른 시간이 길어지고 끓는점이 충분히 다르면 이들을 깨끗하게 분리시킬 수 있다. 이 경우에서의 인력은 Keesom orientation force 로 생각할 수 있다.

위에서 언급한 동족체가 아닌 화합물로서 두 용질의 증기압이 같은 혼합물의 분석에서는 여러 성질을 이용해서 분리할 수 있다. 작용기가 다른 화합물의 분리에서 적절한 액체상을 선택하기 위해 중요한 방법 중의 하나로 McReynolds constant 이다. 이 constant는 Kovats retention indices를 기초로 한 값인데 n-파라핀의 retention indices(RI)란 액체상이나 온도등 조작조건에 관계하지 않고 그 분자의 탄소수를 100배 한 값으로 정의하였다.

DOP와 다른 작용기를 가진 화합물과의 ΔI 를 알아보기 위해 벤젠을 제외한 다른 작용기를 가진 많은 화합물에 대한 DOP의 용리의 크기를 정할 필요가 있다. 그 중에서 선택된 액체상에서 얻은 ΔI 값은 표 19에서 보여주는 바와 같다.

표 19. McReynolds constants of stationary phases.

Stationary Phase	x'	y'	z'	u'	s'
SE-30	15	53	44	64	41
DC-200	16	57	45	66	43
Dinonylphthalate	83	183	147	231	159
OV-17	119	158	162	243	202
SP-2250	119	158	162	243	202
SP-2401	146	238	358	468	310
Carbowax 20M	322	536	368	572	510
SP-2340	523	757	659	942	801

$x' = \Delta I$ for benzene, $y' = \Delta I$ for n-butanol, $z' = \Delta I$ for 2-pentanone,
 $u' = \Delta I$ for nitropropane, $s' = \Delta I$ for pyridine.

이 값은 GC제작회사의 catalogs중 액체상을 나타내는데 함께 기술되어 있다. McReynolds 상수의 유용성은 첫째로 많은 액체상 중에서 비슷한 극성을 가진 액체상을 구분할 수 있다. 그래서 액체상을 구입할 경우에 다른 극성의 액체상을 선택해서 사용할 수 있다. 이 때 고려할 점은 같은 극성으로서 액체상의 사용온도가 높은 것을 선택해야 한다. 예로 DC-200보다 SE-30이 열적으로 안정하다.

둘째는 액체상의 극성의 크기를 나타내므로 적절한 액체상을 선택하여 사용할 수 있다. Fluorosilicone으로서 SP-2401, OV-210 및 FS-1265 및 QF-1은 표4에서 보여주는 바와 같이 y' (238)보다 z' (358)가 더 큰데, 이는 알코올보다 케톤이 더 늦게 용리된다는 뜻이다. Polyglycols로서 Carbowax20M에서는 z' (368)보다 y' (536)이 더 큰 값을 보여주기 때문에, 케톤보다 알코올이 더 늦게 용리된다. 이와같이 작용기가 다른 화합물의 분석에서는 McReynolds constant로서 유용한 액체상을 선택하여 사용할 수 있다. 예로 케톤 화합물에서 알코올 화합물, 지방족 화합물에서 방향족 화합물이나, 불포화 화합물에서 포화화합물의 분리에 쉽사리 이용할 수 있다. 그러나 이 system은 이성질체나 동족체간의 분리를 위한 액체상의 선정문제에서는 아무런 도움을 주지 못한다. 다른 액체상에서 같은 용질간의 ΔI 값이 클수록 그 액체상의 극성은 크다. 예로 널리 사용되고 있는 silicone

polymer로된 액체상 중에서 페닐작용기를 가진 액체상에서 그의 함량변화에 따르는 벤젠용질에 대한 ΔI 의 크기와 관계는 아래와 같다.

Liquid phases	Phenyl(%)	ΔI Benzene
OV-1	0%	16
OV-17	50	119
OV-22	65	160
OV-25	75	178

페닐작용기의 함량이 증가하면 ΔI 값도 증가하고 액체상의 극성크기도 증가한다.

(2) LC의 컬럼 및 정지상

GC와 달리 LC의 컬럼은 보통 직선형으로 길이가 25~30cm, 안지름이 2~5mm 정도이며, 길이를 더 길게 하려면 몇개를 연결하여 사용할 수 있다. 물론 재질은 스테인레스강이다.

LC는 여러가지로 분류되므로 각 LC에 해당하는 수 많은 종류의 정지상을 채운 컬럼을 사용하게 된다. LLC와 BPC는 역시 고체받침이 있어야 한다.

최신 LC의 개발은 정지상의 개발이라고 보아도 좋다. 용리 피이크가 넓어지는 요인은 Van Deemter식에서 기술한 바와 같이 정지상의 입자의 크기, 정지상의 두께, 정지상의 입자의 모양등이 문제가 된다. 일반적으로 정지상의 입자의 형태는 첫째 얇은 층으로 된 정지상이 시료와는 무관한 고체 알갱이(solid core) 표면에 붙어 있는 것을 superficially porous particle이라 부르며, 입자전체가 다공성을 가지며 시료에 대해 정지상의 역할을 하는 것을 totally porous particle이라 부르고, 후자와 같으나 입자의 크기를 매우 작게 만든 것을 매우 작은 totally porous particle이라 부른다. $H=A+B/U+CU$ 에서 H 를 줄여 R_s 가 큰 결과를 얻기 위해선 superficially나 매우 입자가 작은 정지상이 좋다.

좀 더 구체적으로 정지상 입자를 분류하면 3가지 기준으로 분류하는데 다음과 같다.

1. 입자의 연성에 따른 분류

경고한 고체.....LLC, LSC, GPC용

딱딱한 겔.....이온교환, GPC용

부드러운 겔.....GPC용

2. 입자의 모양에 따른 분류

표 20. Summary of different packing for LC

Property	Totally porous packings			Pellicular packings, spherical (< 20 μ m)
	Irregular (> 20 μ m)	Spherical (> 20 μ m)	Spherical irregular (< 20 μ m)	
Efficiency	Low to moderate	Low to moderate	High	Moderate to high
Speed	Moderate	Moderate	Fast	Fast
Packing Characteristics	Fair	Good	Fair	Excellent
Sample size	Large	Large	Large	Small
Cost	Low	Moderate	High	High
Column permeability	High	High	Low	Very high

구형

불규칙한 모양

3. 입자의 구조에 따른 분류

Totally porous

Superficially porous

4. 입자의 크기에 따른 분류

Macro.....50 μ m 이상

Intermediate...20~50 μ m

Micro.....10±2 μ m

일반적으로 위에서 분류한 정지상의 특성을 정리하면 표 20과 같다.

2. 기 기

1) GC의 기기

GC장치는 여섯부분으로 구성되었다. 첫째는 압력조절기와 유량계를 부착한 고압기체 실린더가 운반기체의 공급원이 되고, 둘째는 시료 주입장치이고 셋째는 GC에서 중요한 역할을 하는 분리관(컬럼)이며, 넷째는 컬럼을 통해 나오는 성분을 검출하는 검출기, 다섯째는 검출기에서 검출한 신호를 전환시키고 기록할 수 있는 전위계(electrometer)와 기록기이고 여섯째는 컬럼, 시료 주입구 및 검출기의 각각을 온도를 조절할 수 있는 항온장치이다.

(1) 시료주입

시료는 적당량을 순간적으로 한꺼번에 주입구에 주입함으로써 주입한 시료증

표 21. Sample volumes for different columns

COLUMN TYPE	SAMPLE SIZES	
	GAS	LIQUID
Preparative 1" O.D. , 20% Liquid	0.05-5 liter	0.02-2 ml
Regular Analytical 1/4" O.D. , 10% Liquid	0.5-50 ml	0.2-20 μ l
High Efficiency 1/8" O.D. , 2% Liquid	0.1-1 ml	0.04-4 μ l
Capillary 1/16" O.D. , 5.0 μ film	0.1-10 μ l	0.004-0.5 μ l

기의 때가 이동상에 가능한 한 확산되지않고 그 농도가 짙은 상태로 컬럼에서 이동해야 한다. 그래서 시료주입장치의 온도조절은 분석시료성분 중에서 가장 높은 끓는 점을 가진 온도보다 50 ° C정도 높도록 조작하는 것이 보통이다.

또한 컬럼효능의 저하를 방지하기 위해 주입하는 시료양은 컬럼의 크기와 액체상의 양에 따라 다르다. 시료상태와 컬럼크기의 종류와의 관계는 표 21에서 보여주는 바와 같다.

주입하는 시료상태에 따라서 시료주입하는 방법에서 기체시료는 gas-tight 주사기나 gas sampling valve을 이용해서 주입하며, 액체시료는 마이크로 시린지를 사용해서 septum을 통해 주입한다.

고체시료는 적당한 용매와 적당한 농도의 용액으로서 주입한다.

Capillary컬럼에는 표6에서 보여주는 바와같이 충전용 컬럼에 주입하는 양에 비해 훨씬 적은 양이 주입되어야 하며, 따라서 주입된 시료의 일부만이 컬럼으로 들어가고 나머지는 버리는 시료분할장치(sample splitting system)가 사용된다.

(2) 검출기

가. 검출기의 특성

GC에서 사용되는 검출기에는 많은 종류가 알려져 있다. 그들을 분류하는데는 우선 조작 메카니즘에 따라 농도의존형(concentration dependent)와 질량유속의존형(mass flow rate dependent) 또는 이 두가지 특성의 복합으로 된 검출기로 구분된다. 전자는 열전도도 검출기(TCD)가 그 대표적인 예로서 그 봉우리 면적은

성분의 전체질량에 비례하며 운반기체의 유속에 반비례한다. 즉,

$$A = K_1 M/F$$

로 나타낼 수 있다. 이때 M은 성분의 전체질량, F는 운반기체의 유속, K_1 은 비례상수이다. 따라서 이러한 검출기를 사용할 때는 정확한 정량분석을 하기 위해 운반기체의 유속을 일정하게 유지시켜야만 한다. 후자의 경우 그 봉우리 면적은

$$A = K_2 M$$

으로 표시된다. 즉 이때 봉우리 면적은 성분의 전체질량에 비례하며, 운반기체 유속에는 무관하다. 그 대표적인 예로서 불꽃이온화 검출기(FID)를 들 수 있다. FID의 경우에는 TCD를 사용할 때와 같이 유량을 일정하게 유지하는 것이 중요치 않다.

검출기를 그 기능에 따라 범용검출기(universal detector)와 선택성검출기(specific detector)로 구분할 수 있는데, 전자는 TCD와 같이 모든 성분에 감응되는 성질을 가진 반면, 후자는 ECD(electron capture detector), FPD(flame photometric detector)등과 같이 특정한 원소 또는 작용기를 가진 성분만이 선택적으로 감응된다.

이와 같이 이들 검출기들은 조작원리가 크게 다르기 때문에 서로 비교하기는 어려우나 다음과 같은 각 특성으로서 그 유용성을 나타낼 수 있다.

(가) 선택성(Selectivity)

검출기의 선택성은 측정원리에 따라 다르다. TCD는 시료와 운반기체의 열전도도차이에 의해 감응을 나타내며 열전도도는 화합물의 분자량에 반비례하므로 보정 인자를 사용해야만 한다. FID의 감응에 있어서 에스테르, 에테르 또는 탄화수소에 대해 각각 다르므로 서로 종류가 다른 화합물일 때는 같은 양일지라도 다른 감응을 나타낸다. 따라서 정량분석을 할 경우에는 두 검출기 모두 보정인자를 사용하여 검정을 할 필요가 있다. 선택성 검출기의 선택성 인자는 분석성분에 대한 방해성분의 검출한계의 비로 나타내고 만분의 일의 값이 그 한계값으로 되어있다.

(나) 감도 (Sensitivity)

농도의존형 검출기의 경우 감도(S)는 검출기의 반응으로 표시되며 보통은 성분의 단위농도에 대한 mV로 나타낸다. 즉

$$S = mV \cdot \text{sec} / mg / cm^3 / \text{sec} = mv \cdot cm^3 / mg$$

이다. 위식을 쉽게 측정할 수 있는 피라미터로 표시하면

$$S = (A \cdot C_1 \cdot C_2 \cdot C_3) / W$$

이다. 여기에서 S는 검출기의 감도 ($(\text{mV} \cdot \text{cm}^3) / \text{mg}$)를 나타내며 A는 봉우리 면적 (cm^2), C_1 은 기록기의 감도(mV / cm), C_2 는 기록 지속도의 역수 (min/cm), C_3 는 운반기체의 유속(ml / min) 이며 W는 분석성분의 양(mg)을 나타낸다.

질량유속의존형 검출기의 감도는

$$S' = \text{mV} / (\text{mg} / \text{sec}) = (\text{mV} \cdot \text{sec}) / \text{mg}$$

으로 표시된다. 즉 봉우리 면적을 분석성분의 양으로 나눈 값이 그 검출기의 감도가 된다. 위에서와 같이 다른 파라미터로 표시하면

$$S' = (A \cdot C_1 \cdot C_2) / W$$

이다. 이때 S' 는 검출기의 감도($\text{mV} \cdot \text{sec} / \text{mg}$)이고 C_1 은 기록기 감도(mV / cm), C_2 는 기록 지속도의 역수(sec / cm), A는 피이크 면적 (cm^2)이며 W는 분석성분의 양(mg)이다. 즉, S는 유속에 비례하는 반면 S' 는 유속에 무관하다. Hartmann은 noise의 두배인 최소검출량을 바탕에서의 피이크 폭(sec)으로 나눈 값을 감도로 정의하였다.

(다) 감응 (Response)

검출기의 감응이란 주어진 시료의 양에 따라 나타난 신호의 크기이다. Hartmann은 FID의 감응을 시료 분자가 측정될 수 있는 이온으로 변화되는 이온화과정의 척도로 정의하였다. 이것은 피이크 면적($\text{ampere} \cdot \text{sec} = \text{coulomb}$)을 시료의 무게(g)로 나눔으로써 계산할 수 있다.

$$\text{감응} = \frac{1/2 \text{ Base (sec)} \times \text{height (amps)}}{\text{g}} = \text{coulomb} / \text{g}$$

(라) Noise 와 최소검출량

검출기의 감도를 높이기 위해 증폭장치를 사용하면 신호와 함께 noise의 level도 어느정도 커지므로 측정할 수 있는 성분의 농도에 제한을 받는다. 이때 noise의 봉우리(+)와 봉우리(-) 사이의 값을 N으로 했을 때 성분봉우리를 noise와 구별하려면 검출기의 감응은 N보다 커야 한다. 따라서 최소검출량은 검출기에서의 noise level(N)의 두 배에 해당하는 감응을 나타내는 양으로 한다. 예를 들어

noise level이 $4\mu V$ 이면 최소검출량은 $8\mu V$ 의 감응을 나타내는 성분의 양이다.

(마) 직선농도범위(Linear Dynamic Range)

정확한 정량분석을 하려면 시료의 농도와 검출기의 감응 사이에 직선적인 관계가 성립되어야 한다. 예를 들어서 질량유속에 비례하는 이상적인 검출기를 생각해 보면

$$R = K_3(dM/dt)$$

이다.

R 을 dM / dt 에 대해 plot하면 기울기가 K_3 인 직선을 얻을 수 있다. 그러나 실제로 R 과 dm / dt 의 범위가 매우 넓기 때문에 윗식은 log-log 눈금으로 하는 것이 편리하다. 즉

$$\log R = \log K_3 + \log (dM / dt)$$

이 식은 $y = a+bx$ 인 1차식이며 $b=1$ 즉 기울기 1인 직선이다. 따라서 검출기와 의 관계는 log-log 눈금으로 표시된 감응곡선의 기울기로 정의되며, 검출기의 직선농도범위는 검출기가 직선을 나타내는 최소농도에 대한 최대농도의 비로 나타낸다.

위와 같은 여러가지 특성들을 미루어 볼때, 검출기는 감도가 좋고 noise가 작아야 하며 직선농도범위가 넓고 모든 종류의 화합물을 검출할수 있고, 온도 및 운반기체량의 영향을 받지 않으며 가격이 싸고 견고해야 하는 등의 특성을 가지는 것이 바람직하다.

나) 검출기의 종류

(가) 열전도도 검출기 (Thermal Conductivity Detector, TCD)

TCD는 기체의 조성에 따라 열의 이동이 달라진다는 원리를 이용한 것이다. 1915년 Shakespere가 기체의 순도를 측정하기 위해 처음으로 사용했으며 Katharometer라고 명명하였다. 1946년 Claesson에 의해 GC에 도입되었으며 그 이후 계속 사용되어 왔다.

TC cell내의 감지소자는 일정한 전류를 통해 가열된 필라멘트이다. 이 필라멘트의 온도는 주위기체의 열전도도에 의존하며, 필라멘트의 저항은 기체의 열전도도에 대한 측정값이 된다. GC에서는 두개의 감지소자가 사용되며 하나는 시료통로에, 다른 하나는 reference통로에 위치하고 있다. 이러한 구조때문에 시료주입전에는 운반기체의 열전도도가 상쇄되고 유속, 압력 및 전류 변화에 대한 영향이

없다. 두개의 감지소자의 저항은 wheatstone bridge 회로에 연결함으로써 비교될 수 있다. 나선형의 금속 필라멘트는 기체흐름과의 접촉에 의한 열전도, 대류(자연적인 것과 강제적인 것), 복사 및 금속과의 접촉을 통한 전도 등의 과정에 의해 열이 손실된다. 그러나 금속과 필라멘트의 접촉면적이 매우 작고 복사열 손실도 10^{-6} cal/sec 정도이며, 자연적인 대류도 필라멘트가 들어있는 구멍의 내부직경이 작기 때문에 무시할 수 있다. 따라서 열손실의 대부분은 기체의 열전도와 강제적인 대류에 의한 것이며 이들이 필라멘트의 전체 열손실의 75% 이상을 차지한다. 강제적인 대류에 의한 열손실은 block의 구멍내의 필라멘트 구조를 잘 선택하면 최소로 줄일 수 있다. (보통 “diffusion fed” 필라멘트라고 함) 또한 헬륨이나 수소와 같은 운반기체를 사용하면 필라멘트의 열손실은 주로 기체의 열전도에 의해 일어난다.

그런데 기체의 열전도도차이는 기체분자가 필라멘트로 확산되어 충돌하는 속도와 관계가 있다. 분자의 속도는 분자량의 함수이므로 분자가 작을수록 속도가 커지며 열전도도가 더 크다. 따라서 가장 작은 분자량인 수소와 헬륨의 열전도도가 가장 크다. 표 22에 몇가지 기체의 열전도도가 나와 있으며 분자량이 커질수록 열전도도가 감소함을 알 수 있다.

표 22. Thermal conductivity

	C.G.S. units at 0 °C $\lambda \times 10^5$	Molecular weight
Hydrogen	41.6	2
Helium.	34.8	4
Methane	7.2	16
Nitrogen	5.8	28
Pentane	3.1	72
Hexane.	3.0	86

필라멘트의 금속은 저항의 온도계수가 크고 화학적 부식에 강해야 하며 보통

Pt, W, Ni, W합금등을 사용한다. 다른 열전도도 cell에서는 금속필라멘트 대신 thermistor를 사용하는데 이것은 Mn, Co, Ni 산화물과 원하는 전기적 성질을 갖도록 미량의 원소성분들을 혼합하여 만든다. 이것은 감도는 대단히 좋으나 사용 온도 범위가 한정되어 있고 안정도가 좋지 않으며 온도가 올라감에 따라 감도가 떨어지므로 보통 실온에서 사용한다.

열전도도 cell의 감도는

$$S = KI^2R \frac{(\lambda_c - \lambda_s)}{\lambda_c} (T_f - T_b)$$

로 나타낸다. 이때 S는 감도를 말하며, K는 geometry에 관련된 cell constant, I는 필라멘트 전류, R은 저항이고 λ_c 와 λ_s 는 각각 운반기체 및 시료기체의 열전도도, T_f 와 T_b 는 각각 필라멘트 및 검출기 block의 온도이다. 따라서 TCD의 감도를 증가시키려면 필라멘트의 전류를 증가시키고, block의 온도를 낮추며 열전도도가 큰 운반기체를 사용하고 그의 유속을 줄여야 한다. 그리고 모든 용질의 열전도도가 다르므로 표준품으로 보정해야 한다.

TCD는 모든 기체와 증기에 감응하는 범용검출기이며 농도의존형 검출기이고, 간단하고 값이 싸며 시료를 파괴하지 않는 반면, 다른 검출기에 비해 감도가 낮다. HCl, Cl, F, alkyl halides, organofluorides 등 반응성이 큰 화합물은 TC 필라멘트를 손상시키므로 테프론을 입힌 필라멘트와 Ni로 된 검출기 block을 사용해야 하며 그때의 감도는 2~3배 떨어진다. TCD를 사용하여 온도 programming을 할 때는 온도가 높아짐에 따라 운반기체가 팽창하므로 "differential flow controller"를 사용하여 유속을 조절해야 하며 바탕선을 안정화시키기 위해 운반기체의 압력이 높아야 한다.

(나) 불꽃 이온화 검출기(Flame Ionization Detector, FID)

이온화 검출기는 기체의 전기전도도가 기체중의 전하를 띤 입자의 농도에 직접 비례한다는 원리를 이용한 것이다. FID는 H_2/air 불꽃에서 시료를 태웠을 때 전하를 띤 이온을 생성하는 물질에만 감응한다. 대부분의 유기화합물은 이 불꽃의 온도에서 열분해되어 이온성 중간체가 형성되어 불꽃을 통해 이온전류를 측정할 수

있다. FID의 주요부분 및 특성은 burner jet, collector electrode와 수소, 공기 및 시료의 출구 등이다. 그런데 carbonyl 또는 carboxyl group과 같은 완전히 산화된 탄소 및 에테르와 같은 물질에는 감응하지 않으며 할로젠, 아민, 히드록실기 등의 치환기가 증가함에 따라 감응정도는 감소한다. 또한 $H_2O, CO, CO_2, CS_2, H_2S, NH_3, NO, N_2O, NO_2, SiF_4$ 및 $SiCl_4$ 등의 무기화합물은 감응되지 않기 때문에 대기오염 분석에는 미량의 유기물을 분속할 경우에는 유익하다.

FID는 질량유속의존형 검출기이므로 운반기체의유속에 직접 관련되며 걸어진 voltage (약 300V), H_2/air 혼합비에 따라 불꽃의 온도가 달라서 감응이 달라진다. 그 검출한계는 저탄소 탄화수소에 대해 5ng/sec, 고탄소 유기액체나 기체에 대해 10pg까지 검출한다. 이 검출기의 조작온도는 100~420 °C이며 보통 사용되는 검출기중 직선 농도범위가 가장 넓어서 $10^6 \sim 10^7$ 정도이고, 감도가 좋기 때문에 미량분석에 많이 사용된다.

(다) 전자포착 검출기 (Electron Capture Detector, ECD)

이 검출기는 감도가 극히 예민한 것이 특징이며 전자친화력이 있는 화합물에만 감응, 검출된다. 주요부분은 방사성 동위원소(항용 250mCi 3H 나 10mCi ^{63}Ni), 음극 및 양극이다. 운반기체 (N_2 나 Ar에 10% CH_4 가스혼합)가 동위원소로 이온화되어 생성된 전자흐름(standing current라 하며 10^{-8} amps정도)에 비교적 약한 전기장을 걸어주게 만들었다. 이와 같은 조건에 전자를 포착하는 용질이 지날 때 standing current의 감소를 가져온다. 이 감량은 전자 친화화합물의 양 뿐만 아니라, 그의 친화도에 따라 감응된다. 그래서 검체 성분의 표준품으로 보정할 필요성이 있다.

전자포착 검출기의 반응메카니즘은 시료분자(AB)가 전자와 반응하여 자유 라디칼과 음이온으로 해리하는 해리반응($AB + e^- \rightarrow A^+ + B^-$)과 시료분자가 전자와 반응하여 분자음이온을 생성하는 nondissociative 반응($AB + e^- \rightarrow AB^-$) 및 전자를 흡수하는 화합물에서 좁은 범위의 전자에너지 이상으로 흡수단면이 크게 증가할 때 나타나는 공명전자흡수(resonance electron absorption)과정 등으로 설명된다. 이같은 반응의 이원화원(source)로서 직선농도범위가 넓은 3H 사용되었으나 오늘날에는 350 °C 까지 가열될 수 있고, 검출기의 오염을 감소시키며 해리 전자포착을 행하는 화합물에 대하여 감도가 큰 ^{63}Ni 가 사용된다.

표 23. Electron capture relative response factors(benzene=1)

Factor	Compound or class
1	Aliphatic hydrocarbons
1 - 10	Aromatic hydrocarbons Alcohols, ketones, ethers Monofluoro compounds
$10^{-1} - 10^{-2}$	Amines, esters, aldehydes, nitriles Monochloro compounds Trifluoro compounds
$10^{-2} - 10^{-3}$	Dichloro aliphatic compounds (some) Stilbenes Oxalates
$10^{-3} - 10^{-4}$	Dichloro aliphatic compounds (some) Monobromo compounds Hexafluoro compounds
$10^{-4} - 10^{-5}$	Dichloro aromatic compounds Mononitro compounds
10^{-5}	Monoiodo compounds Dibromo compounds Trichloro (or greater) compounds

ECD의 선택성을 살펴보면 표8에서 보는 바와 같이 alkyl halides, conjugated carbonyles, nitriles, nitrates, 유기금속화합물에 대해 상당히 감도가 높으나 탄화 수소, 알코올, 케톤 등에는 감도가 낮다. 특히 halide에 대해서는 감도가 높는데 $I > Br > Cl > F$ 의 순서이며 특히 유기염소제의 농약분석이나 PCB (polychlorinated biphenyls) 등의 환경오염시료의 분석에 많이 사용되고 있고 어떤 농약의 경우에는 $10^{-12}g$ 이하의 농도도 측정이 가능하다. 또한 이 검출기는 농도 의존형검출기이다.

(라) 알칼리 불꽃 이온화 검출기 (Alkali Flame Ionization Detector, AFID)

이 검출기는 thermionic detector 라고도 불리우며 보통 FID와 같으나 파인 수소불꽃에서 burner jet 위에 $KCl, RbCl, Na_2SO_4, CsCl$ 이나 Rb_2SO_4 등의 알칼리금속 염이 담긴 cup 또는 도포된 wire screen을 놓아 사용한다. 그 조작과정의 이론적 메카니즘은 확실하지 않으나 연소과정(파인수소불꽃)에서 생성된 특정분자나 그 토막화합종이 알칼리염 증기에 노출되어 특성적인 이온화화합종이 되어 전극에 검출되며, 사용하는 알칼리염에 따라 다르지만 특히 인화합물이나 질소화합물에 대해 선택적으로 감응한다. 탄화수소계열은 쉽게 검출되는 이온화화합종이 형성되지 않아 검출이 안된다. 조작할때 유의할점은 수소유속을 0.01ml / min이하의 변화가 되도록 일정하게 유지해야만 바탕선 안정도가 좋으며, 공기유속도 1/10 정도 이하로 일정하게 조절하여 사용해야 한다.

AFID의 감도는 FID에 비해 질소화합물에서는 50배, 인화합물에서는 500배이상 민감하며 또한 최소검출량은 (caffeine) $0.06 \times 10^{-12} \text{ g / sec}$ 이다. 또한 이 검출기는 질량유속의존형 검출기이고 탄화수소에 대한 인화합물의 선택성은 10,000 배, 할로젠, 황, 질소를 함유한 유기물의 감도는 인화합물에 비해 1 / 1000 정도되는 선택성 검출기이다. 그래서 식품에 잔존되어 있는 미량의 유기인제 노약분석에 이용되고 있다.

(마) 불꽃광도 검출기(Flame Photometrie Detector, FPD)

파인수소불꽃에서 불꽃광도계에 의해 공기중의 황 또는 인함유 화합물을 검출하는 기술은 1962년 독일 특허에 발표되었다. 1966년 이 기술의 응용으로 Brody와 Chaney는 GC를 위한 최초의 FPD의 발전을 이루었다.

이 검출기에서는 유출된 화합종이 파인 수소 / 산소 또는 수소 / 공기 불꽃을 통과하면 황합물은 분해하여 들뜬 화학종인 S_2 가 생성되고, 인화합물은 들뜬 HPO라는 화학종이 된다. 이 들뜬 화학종이 바닥상태로 돌아가면서 특정한 molecular band spectra를 낸다. 이 방출 스펙트럼은 광전증배관에 의해 검출된다. 따라서 FPD는 인과 황화합물에 대해 선택적이다. 이들은 HPO분자화합종으로 526nm에서, S_2 로 394nm에서의 필터를 사용하여 선택적으로 화합물을 검출한다.

인화합물에 대한 감응은 직선적인 반면 S의 단일원자를 함유하는 화합물에 대한 감응은 그 화합물의 농도의 제곱에 비례한다. 또한 인과 황에 대한 FPD의 감응은 탄화수소의 그것보다 10^4 배 이상이다. 따라서 선택성 검출기의 부류에 속한

다.

이 FPD는 농약(특히 황과 인을 함유하는)의 분석에 응용되며 FID나 ECD보다 선택성이 훨씬 크다. 또한 대기오염 중의 mercaptans, SO_2 , H_2S 등과 기체 중의 thiophene등의 기체상태의 황화합물을 검출하는데 사용된다. 그리고 인을 함유하는 미량의 nerve gas와 다양한 휘발성 금속염과 킬레이트화합물, 알킬화합물 및 실릴화된 화합물의 검출에 이용된다. 표8에 황 및 인함유 화합물들의 FPD검출한계를 참고로 실었다.

(바) 전기전도도 검출기 (Electrolytic Conductivity Detector, ELCD)

ELCD는 1962년 Piringer와 Pascalau에 의해 GC유출물의 정량에 처음으로 적용되었다. 유기화합물이 로(furnace)에서 CO_2 로 연소되고 긴 모세관내의 탈염수에 녹인 후 그 용액의 전도도가 측정된다. 1965년 Caulson은 비슷한 system을 할로젠, 질소, 황함유 화합물의 선택적인 검출에 응용하였다. 이 ELCD는 거의 1~5 ng의 polyhalogenated pesticide에 민감하였으나 탄소함유 화합물에는 매우 낮은 감응을 보였다. 그후 Jones와 Nickless, Dolan과 Hall Lowrence와 Moore 등에 의한 연구로 감도와 선택성이 개선되었다. 또한 1974년에는 Hall이 좀 더 개선되고 low-volume 전도도셀을 가진 microelectrolytic conductivity detector를 만들었다. 이것은 Coulson detector의 20~50배의 감도를 나타냈으며 주로 할로젠 또는 질소에 선택적인 검출기이다. 1978년 Hall등에 의한 보고에서는 전기전도도를 측정하는데 AC 전류보다는 programmed amplitude bipolar pulse를 사용하였고 그 후 계속 발전하여 Hall 전기전도도 검출기 HECD를 사용하게 되었다. HECD의 기본 구조는 반응로(reaction furnace), gas-liquid contactor, gas-liquid separator, conductivity cell, solvent circulating / deionizing system, electronic system등으로 되어 있다. ELCD의 반응으로 산화, 환원 및 pyrolytic의 세가지 방식중 하나로 조작된다. 산화방식에서는 할로젠, 황, 질소, 탄소, 산소를 함유하는 화합물로부터 HX , SO_2/SO_3 , NO_2 , CO/CO_2 , H_2O 등의 생성물이 되는데 H_2O 와 CO 는 일반적으로 감응이 없고 CO_2 와 NO_2 는 예외적으로 낮은 감응을 나타낸다. 환원방식의 주요 생성물은 할로젠, 황질소, 산소를 함유하는 화합물로부터 HX , H_2S , NH_3 , CH_4 , H_2O 등이고 정상적인 조작조건에서 CH_4 와 H_2O 는 거의 감응이 없다. 위와 같은 선택성이외에도 적당한 반응조건에서 poly chlorinated biphenyl과 poly chlorinated naphthalenes 존재시에 유기염소제 농약의 선택적 감응이 가능하다. 또한 아민류의 선택적인 검출과 질소화합물 존재하에서 니트로사

민(nitrosamines)의 선택적 검출도 가능하다. 얻어진 반응생성물은 로의 온도, 분자구조, 산성 또는 염기성 생성물을 제거하는 post-furnace abstractor 의 사용등에 따라 달라진다. 또한 이 검출기의 감응은 전도도 cell내의 반응생성물의 농도, 용매 중의 생성물의 해리상수(K), 액체상에서 음이온화학종(λ^-)과 양이온화학종(λ^+)의 당량이 온전도도 [λ^- ($\Omega^{-1}\text{cm}^2 \text{equiv.}^{-1}$)]등에 의해 결정되며 감도 및 선택성은 로의 온도, 반응물질과 운반기체의 유속, 전도도 cell을 통하는 물의 유속의 영향을 받는다.

표 24. Representative FPD Detection Limits for Sulfur and Phosphorus Containing Compounds

Compound	Species detected	Detection limit
Methyl	P	$1.1 \times 10^{-12} \text{ g/sec}$
parathion	S	$8 \times 10^{-11} \text{ g/sec}$
parathion	P	$1 \times 10^{-11} \text{ g/sec}$
DEEP (diethylpheneyl)	P	$2.3 \times 10^{-13} \text{ g p/sec}$
DEEPT(diethylpheneyl phosphothionate)	P	$1.6 \times 10^{-13} \text{ g p/sec}$
Ro-Neet	S	$5 \times 10^{-11} \text{ g s/sec}$
Malathion	P	0.25 ng
SO_2	S	0.06 ng
H_2S	S	0.03 ng
$(\text{CH}_3)_2\text{S}$	S	0.06 ng
CH_3SH	S	0.28 ng

2) LC의 기기

HPLC의 기기발전은 GC에 힘입었다고 해도 과언이 아니며, 이론적으로 적합한 정지상이 개발되고 입자가 작아지므로서 적합한 부수되는 기기의 문제 및 검출기의 개발로 인하여 최근 10년간 획기적인 발전을 하였다. 우리나라의 경우 HPLC 기기가 선보이기 시작한 것은 1975년도쯤 되며 이제 HPLC는 모든 분석실이나 연구소의 필수품으로 까지 그 활용성이 증대되었다.

(1) 펌프

LC기기중 무엇보다 가장 중요한 부분은 용매를 일정한 압력으로 컬럼에 보내는 고압펌프이다. 펌프가 갖추어야 할 요건을 간단히 정리하면 다음과 같다.

1. 펌프내부는 용매와의 화학적 상호반응이 없어야 한다.
2. 최소한 5,000psi의 고압이 가능해야 한다.
3. 유속은 0.5~10 ml / min 정도 조절이 가능해야 한다.
4. 펌프에서 나오는 용매의 공급은 펄스가 없어야 한다.
5. 용매의 유입의 재현성은 1%이내 이어야 한다.
6. 기울기 용리가 가능해야 한다.

이상의 요건을 만족하는 펌프로써 가장 많이 쓰이는 펌프의 형은 왕복피스톤펌프(reciprocating piston pump)이다.

(2) 시료주입부

다음으로 중요한 부분은 시료의 주입인데 시료의 주입방법은 두가지로 나뉜다. 첫째는 syringe 를 사용하는 방법인데 컬럼에 직접 주입시키는 on-column injection방법이 있고, 용매의 유입을 중단시키고 시료를 주입시키는 stop-flow-injection법이 있는데 전자는 1,500psi이하에서만 가능하며, 후자는 그 이상의 압력으로 용리시킬때 취하는 방법이다.

둘째 방법은 발브를 이용하여 시료를 주입시키는 방법인데 발브의 용량은 보통 0.5 l~수 μ l정도이고 압력은 5,000psi까지 견딜 수 있다. 많은 시료를 분리할 경우에는 자동시료주입 장치를 이용하는 것은 분리시간을 단축시키는 방법이 된다.

(3) 검출기

컬럼을 통해 나오는 성분을 즉시 검출하는 것은 LC 크로마토그램에서 가장 중요한 일이다. LC에서 사용되는 검출기로서는 ①UV검출기, ②RI (refractive index) 검출기, ③전기화학검출기, ④형광검출기, ⑤ IR (infrared) 검출기 ⑥전도

도 검출기, ⑦질량분석 검출기, ⑧원자 흡수 검출기 등이 있는데 가장 흔히 쓰이는 검출기는 UV검출기와 RI검출기이다.

UV검출기는 흡수광이 한 파장 즉 254nm만으로 고정된 검출기가 있고 흡수광을 원하는 파장으로 조절할 수 있는 검출기가 있다. 일반적으로 UV검출기는 다음의 특성을 갖는다.

1. 감도가 $10^{-6} \sim 10^{-10}$ g으로 크다.
2. 시료에 따라 선택성이 있다.
3. 기율기 용리에 적용이 가능하다.
4. 가장 많이 쓰이는 검출기이다.

UV검출기의 경우는 시료에 포함된 각 성분이 검출기에서 조사되는 파장의 빛을 흡수해야만 가능하다. 고정된 한개의 파장의 빛은 수은방전관에서 나오는 254nm의 빛이므로 시료는 이 범위에서 빛을 흡수할 수 있는 발색단을 갖는 물질이어야 한다. 만일 어느 성분이 254nm에서는 흡수가 극히 적고 다른 파장에서는 크다고 하면 이 성분의 피이크는 매우 작을 수 밖에 없고 따라서 검출기의 감도는 작아진다. 예를 들면 산성용액 (PH=2)에서 cytidine은 254nm에서 보다 280nm에서 강한 흡수를 갖는다. 따라서 254nm로 고정된 검출기를 사용한다면 매우 작은 용리 피이크만 보일 것이다. 따라서 가장 좋은 UV검출기는 파장을 변화시킬 수 있는 검출기 (variable wavelength UV detector)이다.

또하나의 흔히 쓰는 검출기는 RI검출기인데 그 원리는 순수한 용매만의 굴절율과 컬럼을 통해 나오는 용액의 굴절율의 차이가 검출되어 기록되는 것인데 그 특성은 다음과 같다.

1. 모든 시료에 대해서 검출이 가능하다.
2. UV검출기에 비해서 감도는 약 10^{-6} g정도로 약간 작다
3. 기율기 용리에는 사용할 수 없다.
4. 온도에 예민하다.
5. 대규모 분리에 적합하며, 특히 GPC에 적당하다.

참고로 흔히 쓰이는 검출기의 특성과 성능을 비교한 결과를 정리하면 표 9와 같다.

3. 응용 - 정성 및 정량분석

GC나 LC의 정성-정량분석은 첫째 크로마토그램만을 고려하는 방법, 분취한 성분을 다른기기분석 방법으로 분석하는 경우 및 GC-MS혹은 LC-MS와 같이 on-line으로 분석하는 방법등으로 구분할 수 있는데 여기서는 크로마토그램만을 고려한 방법을 간단히 소개하고자 한다.

1) 정성 및 정량 분석

(1) 정성 분석 - 머무름 자료에 의한 확인법

머무름부피는 컬럼으로부터 분석성분이 용리되기 까지의 흐른 운반기체의 부피를 말한다. 압력이 일정하면 운반기체의 유량은 시간에 비례하므로 머무름시간을 정의할 수 있다. 머무름시간과 부피는 주어진 조작 조건에서 용질과 액체상에 따른 특성이므로 용질을 확인하는데 이용할 수 있다. 확인방법은 같은 GC 조건에서 미지의 물질과 표준물질을 분석하여 머무름시간을 비교하는 것이다.

표25. Typical specifications for most-used LC detectors

Parameter (units)	UV (absorbance)	RI (RI units)	Radioac- tivity	Electro- chemical (μ amp)	Infrared (absorbance)	Fluoro- meter	Conducti- vity (μ Mho)
Type	Selective	General	Selective	Selective	Selective	Selective	Selective
Useful with gradients	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No
Upper limit of linear dynamic range	2~3	10^{-3}	N. A.	2×10^{-5}	1	N. A.	1,000
Linear range (max)	10^3	10^4	Large	10^6	10^4	$\sim 10^3$	2×10^4
Sensitivity at $\pm 1\%$ noise, full-scale	0.002	2×10^{-6}	N. A.	1×10^{-9}	0.01	0.005	0.05
Sensitivity to favorable sample	2×10^{-10} g/ml	1×10^{-7} g/ml	50cpm ^{14}C /ml	10^{-12} g/ml	10^{-6} g/ml	10^{-11} g/ml	10-8g/ml
Inherent flow sensitivity	No	No	No	Yes	No	No	Yes
Temperature sensitivity	Low	10^{-4} $^{\circ}\text{C}$	Negligible	1.5% / $^{\circ}\text{C}$	Low	Low	2% / $^{\circ}\text{C}$

수정안된 머무름부피 (uncorrected retention volume)는 크로마토그램에서 주입점 (injected point)에서 봉우리의 꼭지점까지의 부피를 말하며, 컬럼의 크기, 액체상의 종류와 양, 컬럼온도, 운반기체의 종류와 유속, 기기내의 불감부피(제조회사별로 다름)등에 따라 다른 값을 나타낸다. 불감부피의 영향을 받지 않기 위해

조정된 머무른부피(adjusted retention volume)가 보다 많이 이용된다. 이는 크로마토그램에서 air peak봉우리 ($K=0$ 인 성분)의 꼭지점으로부터 성분 봉우리의 꼭지점까지의 측정된 부피이다. 또 다른 방법으로 상대적 머무른 부피(relative retention volume, α)가 있다. 이는 분석성분과 표준성분의 머무른 부피간의 비를 말하며 수정된 머무른 부피보다 구하기 편하고 정확한 값을 준다.

일반적으로 α 값은 단지 컬럼온도와 액체상의 종류에만 의존하므로 봉우리의 성분을 확인할 수 있는 좋은 방법이다.

(2) 정량분석법

GC분석후에 정량을 하기 위한 계산방법에는 여러가지가 있다.

첫째, normalization방법이다. normalization이란 각 성분의 넓이를 전체넓이로 나누어 넓이 %를 구하는 것이다.

$$\%A = \frac{\text{Area of A}}{\text{Total area}} \times 100$$

동족계열에서 끓는점이 비슷한 성분을 분석할 경우 이 방법으로 중량%를 구할 수 있다. 이것은 모든 성분이 용리되고 각 성분의 검출기 response가 같다는 가정아래 사용할 수 있으며 이러한 가정이 맞는다면 이 방법은 매우 신속하고 간편한 것이다.

둘째, 보정인자법 (correction factor method)이다.

서로 다른 성분의 화합물일때 검출기의 response도 달라지므로 각 성분들의 넓이는 그 성분%에 직접적으로 비례하지는 않는다. 따라서 보정인자를 구할 필요가 있다. 검출기가 다른 경우 검출원리가 달라지므로 보정인자도 다르게 된다.

$$\%A = \frac{\text{Area A} / F_A}{\sum \text{Area} / F} \times 100$$

보정인자 F를 정하는 방법은 다음과 같다. 주입된 각 성분의 무게(W)를 알면 각 성분의 넓이 A를 측정하여 각 성분의 무게에 대한 넓이의 비를 구한다. 이 비가 각 성분에 대한 보정인자 F가 된다. FID를 사용해서 기준이되는 성분의 F의 비를 표26에 실었다.

표26. FID relative sensitivities

Compound	Relative Sensitive
<u>Normal Paraffins</u>	
Methane	
Ethane	0.97
Propan	0.97
Buptanoic	0.98
Pentane	1.09
Hexane	1.04
Heptane	1.03
Octane	1.00
Nonane	0.97
	0.98
<u>Aldehydes</u>	
	0.62
Butyraldehyde	0.77
Heptanoic aldehyde	
<u>Aldehydes (cont.)</u>	
	0.78
	0.80
Octaldehyde	
Capric aldehyde	
<u>Aromatics</u>	
	1.12
	1.07
Benzene	1.03
Toluene	1.00
Ethylbenzene	1.04
para-xylene	1.02
meta-xylene	1.02
ortho-xylene	1.01
1M2-Ethylbenzene	1.00
1M3-Ethylbenzene	
1M4-Ethylbenzene	
1, 2, 3 - Tri - methylbenzene	0.98

셋째, 절대 검정법(absolute calibration)이다.

순수한 시료(표준품) A를 정확한 양 주입하여 얻은 봉우리의 넓이를 무게에 따라 도시하면 검량선을 얻을 수 있으며 검량선은 영점을 지나는 직선이 되어야 한

다. 미지시료를 정확한 양 주입하여 넓이를 측정하고 검량선으로부터 시료성분의 양을 계산할 수 있다.

$$A(Wt\%) = (\text{gms} / \text{Area})_{\text{STD}} \times (\text{Area} / \text{gm})_{\text{Sample injected}} \times 100$$

봉우리넓이와 마찬가지로 봉우리높이도 이용할 수 있다. 이 방법은 주입된 시료 양을 정확히 알아야 하고 검출기의 감도가 분석할 때마다 다르므로 새로운 검량 곡선을 만들 필요가 있다.

내재, 내부표준화법(Internal standardization)인데, 이 방법은 상대적 또는 간접적인 검정법으로 시료와 표준물질의 무게비를 적당히 여러개로 만들어 분석하는 것이다. 넓이의 비와 무게비를 이용하여 검정선을 만든다음 내부표준물질을 정확히 재어서 미지시료에 가한 후 분석을 한다. 넓이의 비를 측정하고 검정선 위에서 미지시료와 표준물질의 무게비를 구한다. 첨가된 표준물질의 무게를 알고 있으므로 미지물질의 양을 쉽게 계산할 수 있다.

이 검정방법의 장점은 주입된 양을 정확히 측정할 필요가 없고 검출기의 response가 변하더라도 넓이의 비에 영향을 주지 않는다. 한편 단점은 미지성분과 간섭을 일으키지 않는 표준물질을 구하는 것이다.

2) GC의 응용

GC의 응용범위는 상당히 넓은데 분석시료의 성질에 따라 앞서 설명한 바와 같이 적절한 액체상과 조작조건을 선정해야 한다. 특히 화합물의 구조에 따라 알맞는 액체상과의 관계는 표27에서 보여주고 있다.

표27. Stationary phase reported for the separation compound classes

ACIDS, FREE :

C₁-C₉ : Chromosorb 101, Porapak Q-S, Porapak Q

C₁-C₁₈ : FFAP, 10% polyester (DEGS, EGA, etc)+2-3% H₃PO₄

ALCOHOLS

C₁-C₅ : Porapak P (or PS), Porapak Q (or QS), Porapak S (for normal and branched alcohols), Chromosorb 101, Chromosorb 102, THEED, Quadrol, Hyprose SP-80, di-glycerol, Hallcomid M-18, Carbowax 400/Porasil C, Carbowax 1500.

C₁-C₁₈ : Carbowax 20M, FFAP

ALDEHYDES

Carbowax 1540, Carbowax 20M, Ethofat 60/25 (on Fluoropak 80), Porasil C, Porapak P-S

ALKALOIDS

SE-30, OV-1, OV-17, OV-210, 10% Apiezon L-2% KOH

AMINO ACID DERIVATIVES

N-TFA butyl esters : EGA (stabilized), OV-17, EGSS-X, DEXSIL 400 (capillary column),
OV-1, OV-11, Apiezon M, OV-210, EGA.

AMINES

Chromosorb 103, 10% Carbowax 20M-2% KOH, 10% Apiezon L-2% KOH, 2% Ucon HB-660
on Cerabeads

AMIDES

Versamid 900, Apiezon L

CARBOHYDRATES (as methyl ether, TMS-ether or TMS derivatives)

OV-101, SE-30, SE-52, OV-225, Apiezon L, EGS, OV-17

DRUGS

OV-1, SE-30, OV-17, OV-210, OV-225, DEXSIL 300GC, PDEAS, OV-101, Apiezon L, EGS

ESTERS

General : FFAP, OV-101, Porapak R, Carbowax 20M, SE-30.

Fatty acid methyl esters : DEGS (stabilized), EGA (stabilized), EGSS-X, Apiezon L

C₂₀-C₃₀ Fatty acid methyl esters : DEXSIL 300GC

Bile acid, methyl esters : OV-1, AN-600, DEXSIL 300GC, SE-30, NPGS, OV-210

Triglycerides, sterol ethers, sterol esters : DEXSIL 300GC

ETHERS

Carbowax 20M, Carbowax 1500, SE-30, (GC Grade)

GLYCOLS

Propak P, Chromosorb 101, Chromosorb 102

HALOGENATED COMPOUNDS

Carbowax 20M, OV-210, SE-30

HYDROCARBONS

Aliphatic, low boiling : Squalane, Chromosorb 102, Chromosorb 104, Porasil B, n-Octane,
Porasil C, Phenyl Isocyanate / Porasil C, Silica Gel, n-octane/Porasil C,
Porapak Q, Ucon LB-550X

Aliphatic, high boiling : Apiezon L, DEXSIL 300GC

Olefins : Propylene carbonate, benzyl cyanide-AgNO₃, N,N-bis(cyanoethyl) formamide,
dimethyl sulfolane, Phenyl isocyanate / Porasil C, Porasil B, Ucon LB-550-X.

Aromatic low boiling : N,N-bis(2-cyanoethyl) formamide, tricresyl phosphate, β , β'
oxydipropionitrile, DC-200-Bentone 34, DIDP-Bentone 34, Porasil G,
Carbowax 400 / Porasil F.

Aromatic high boiling : Apiezon L, polyphenyl ethers, FFAP, DEXSIL 300GC Reoplex 400.

KETONES

FFAP, DC-550, Porapak Q, Chromosorb 101, Chromosorb 102, Zonyl E-7, OV-210, Carbowax
20M, Triton X-305, 1, 2, 3-tris(cyanoethoxy) propane.

NITRILES

FFAP, OV-225, AN-600, tris(cyanoethoxy)propane

PESTICIDES

DC-200, OV-101, OV-1, SE-30, OV-17, OV-210, OV-225 and mixed phases of the preceding, Versamid 900,

DEXSIL 300GC, SE-30, Cabowax 20M, Reoplex 400.

PHENOLS

OV-17, Cabowax 20M, 3% NPGS-1% H₃PO₄, AN-600, XE-60, OV-1, OV-25, SE-30, OV-210, AN-600, OV-7

STEROIDS

OV-1, OV-101, SE-30, OV-225, AN-600, DEXSIL 300GC, OV-210, OV-17

SUGAR, as TMS derivatives

DEXSIL 300, OV-17, OV-210, OV-225, AN-600, SE-30

SULFUR COMPOUNDS

Porapak Q, Chromosorb 104, FFAP

TERPENOIDS

Apiezon L, SE-30, Reoplex 400, Cabowax 20M, EGA, DOP, TCP, EGA, polyphenyl ether, AN-600, BDS, OV-210, OV-225, DEGS.

GASES AND MISC. LOW MOL. WT. COMPOUNDS

H₂, O₂, CO, CH₄, - Molecular Sieves 5A or 13X

CO₂, H₂S, CS₂, COS - Porapak Q, Chromosorb 101, Chromosorb 102

Air, CO₂, CH₄, light aliphatics - Silica Gel, Porapak N, Porapak Q

Oxides of nitrogen - Porapak Q, Chromosorb 104,

Oxides of sulfur - Chromosorb 104

CH₂O, H₂O, CH₃OH, - Porapak T, Chromosorb 105

Air, CO₂, NH₃, H₂O - Porapak N

HF, C₂L₂, C₂F₃, F₂ - Kel F Oil No. 3 or No. 10, Kel F wax all on Anaport Kel F 300 LD support, or Anaport TEESIX

3) 헤드스페이스 가스크로마토그래피

(1) Headspace sampler의 원리

혈액과 같이 조성이 복잡한 물질중에 조내하는 휘발성 물질을 검출할 때 응용한다. 밀폐된 공간에서 증기가 액체상과 평형을 이루는 것을 이용하여 일정량의 Headspace sample을 취하여 분석한다. Headspace vessel 및 sampling line은 일정온도로 조정하여 시료가 주입전 일정한 조건에 있도록 한다. 시료중 미량으로 존재하는 휘발성 성분을 정량할 때 기존의 GC법으로 적용이 어려운 경우 사용한

다. 일반적인 추출법에 비하여 전처리 과정이 단순하고 시료의 손실이 적다.

(2) 시료채취 방법

시료를 기기에 주입하는 방법은 미세관에 시료 성분을 응축시키거나 활성탄에 흡착시켜 농축시키는 간접방법이나 시료 바이알에서 직접 Headspace sample을 취하는 방법이 있다.

(3) 분석시 오차의 발생 요인

분석시 오차가 발생할 수 있는 다음의 요인을 충분히 검토하여 오차를 최소화 하지 않으면 전혀 정량성이 없는 데이타를 얻게 된다.

가. 가스크로마토그래피 주입용 sampling line의 항온 유지 및 기기안정도

나. 시료가 증기압 평형에 도달하는 시간

시료의 액체상과 고체상 중의 분석성분이 충분히 평형 상태에 도달하지 않으면 정량성이 없는 데이타가 얻어진다.

다. 각 시료성분이 기체상으로 확산되는 속도

라. Headspace용 바이알 뚜껑의 고무 마개에 시료 성분의 흡착이 일어날 수 있다.

(4) 시료의 취급

시료를 채취해서 분석실로 이용할 때는 용기 상부에 gas phase가 없도록 용기에 시료를 꽉차게 채워 시료성분의 손실을 막는다.

(5) Headspace sampler의 응용

가. 균질한 액체 시료: 음용수, 하수, 음료수, 광유

나. 균질한 액체와 고체의 혼합물: 혈액, 우유, 폴리머 서스펜션

다. 균질한 액체화 할 수 있는 고체 물질: 가용성 폴리머, 유기물의 염등

라. 녹지 않는 고체 물질: 고분자물질, 음식류, 과일

4) LC의 응용

(1) LC 방법의 선택원칙

LC로 시료의 분리를 할 경우 가장 중요한 일은 여러가지 LC방법중 가장 적합한 한가지 방법을 선택하는 것이다. 본 교재에서는 자세히 다루지 못했으나 6가지 LC의 구체적인 원리, 이동상, 고정상의 특성과 시료간의 상호작용등을 잘 숙지해야만 올바른 선택을 할 수 있다. 여기서는 일반적인 안내정도로 소개하고자

한다.

일반적으로 LC방법을 선택하는데 고려되는 요인을 보면 ① 시료의 성질이다. 즉 분자량이 크냐, 작으냐, 수용성이나, 지용성이나, 이온성이나, 아니면 비이온성이나 등 고려해여 한다. ② 요구하고 있는 분리인자의 형태 ③ 실험상의 용이성 즉 시료채취, 실험조건결정, 컬럼의 안정성, 컬럼의 유효성, 컬럼충진실험의 용이성 등이다. ④ 연구된바 있는 방법의 조사 및 경험을 토대로 한 시도, 즉 일반적으로 흔히 시도하는 LC방법을 한가지 혹은 2~3가지 시도하거나 시료와 비슷한 실례를 이에 보고된 문헌을 참고하여 그 LC 방법을 선택하는 요령이다. 흔히 시도하는 LC column을 쓰이는 빈도가 큰 순으로 나열하면 (1) C8 (혹은 C18 BPC column) (2) bimodal SEC silica column set (3) Silica (LSC) column (4) Polar-phase BPC Column (5) Diomodal SEC gel column set (6) BP-ion exchange column (anion cation) 등이다.

시료의 분자량의 크기 및 수용성과 지용성등의 성질에 압각하여 LC방법을 선택하는 간단한 안내는 다음의 표와 같다.

(2) LLC응용의 예

표28. BPC의 응용예

시 료	조 건
1. Fused-ring aromatics	C ₁₈ -Modified porous-silica microspheres (7 μm). UV-254nm Detector isocratic : 87.5% MeOH-H ₂ O (a) gradient : 62.5~100% MeOH-H ₂ O (b)
2. Fatty acid phenacyl esters	RP (Reversed phase LC)
3. Tridigitoxides	RP LC μ-Bondapak-C ₁₈ , acetonitrile-H ₂ O, UV-254nm
4. Blood serum for hydrochlorothiazide	RP LC
5. phenolic constituents from tobacco	C ₁₈ -(10 μm), 37% acetonitrile-H ₂ O, UV-220nm Detector
6. Sweetened soft drink (Saccharin, benzoic acid caffeine)	Spherisorb ODS, (10 μm), 15% MeOH-H ₂ O, UV-280nm
7. Substituted-urea herbicides	μ-Bondapak-C ₁₈ , 0.1N KH ₂ PO ₄ -methanol, UV-350nm μ-Bondapak-C ₁₈ , 5% acetic acid solution, UV-250nm
	C ₈ -Modified porous-silica (8.4 μm) 75% MeOH-25% H ₂ O, UV-254nm

PBC의 응용범의는 상당히 넓은데 그 이유는 다른 LC도 그렇지만 특히 BPC는 정상 및 역상으로 가능하고 다양하게 고정상을 변화시킬수 있어 시료가 극성이거

나 비극성이거나 간에 다 대상이 되기 때문이다.

표29. RPIC의 응용예

시 료	조 건
1. Pyridine derivatives	RPIC : 1-pentanol on silanized Lichromosorb SI-60, 0.03M tetrabutylammonium NaSO ₄ +0.04M phosphate (pH7) in water, UV-254nm
2. Tetracyclines	RPIC : Silylated partisil (18 μ m) : 0.1M HClO ₄ /0.3M NACLO ₄ /0.002M citric acid in 15% V acetonitril/water
3. phenols	RPIC : Bis-(2-ethylhexyl) phosphoric acid/CHCl ₃ , buffer solution (pH3.8)
4. Dyes	RPIC : μ -Bondapak C ₁₈ : MeOH/water (pH2~4), (Butyl) ₄ N-counterion.

표30. LSC의 응용예

시 료	조 건
1. Trace metals (Hg, Cu, Pb)	Nucleosil 100-10 benzene, UV-360nm
2. PTH amino acids	Zobax-Sil MeOH/propanol/hexane, UV-254nm
3. Alkloids in cough syrup	Merck SI 100 Isopropanol/ammonia/iso-propylether, UV-254nm

표31. LLC의 응용예

시 료	조 건
1. Azo dyes	β '-Oxydipropionitrile on zipax, hexane, UV-254nm
2. Fat-soluble vitamins in a tablet extract	Zipax-HCP% H ₃ PO ₄ , UV-254nm 79% MeOH-21% H ₂ O-0.1 5~10 μ m
3. Metal(Be, Fe, Cr, Co)- β -diketonate complexes	H ₂ O-EtOH-2, 2, 4-trimethylpentane, UV-254nm
4. Steroids, phenols, insecticides, nonionic detergents, hydrocarbons	

표32. IEC의 응용예

시 료	조 건
1. Alkali metals(Na, K, Rb, Cs)	Aminex Q-1505(polymeric 20~35 μ m) 1.6M HCl
2. Benzodiazepins	Partisil-10-SCX (bonded-phase, 10 μ m) 0.05M ammonium phosphate(pH-3) in 60% methanol, UV-254nm
3. Nucleotides in rat-liver	Permaphase-AAX(BP, pellicular, anion ex), 0.003~0.5M KH_2PO_4 , (pH3.3) UV-254nm
4. Boiler blowdown water (glycolate, Cl^- , Na_2SO_3 , SO_4^{2-} , Na_2HPO_4)	Chromex anion ex(50 μ m surface-layer), Stripper column : Dowex 50-2 $\times$ -16, 0.005M Na_2CO_3 , 0.004M NaOH

표33. SEC의 응용예

시 료	조 건
1. Polymer additives in lubricating oil	2-Styragel 100Å, 1-styragel 103Å, 1-styragel 104Å, THE
2. Oligomers in phenolic resin	μ -Micropak BKG-2,000 H, THF, UV
3. Vitamin A in vitamin drops	μ -Styragel 100Å, THF, UV-254nm

참 고 문 헌

1. E Heftmann, Chromatography - A laboratory handbook of chromatographic and electrophoretic methods, Van Nostrand Reinhold Company, 1975
2. HM McNair and EJ Bonelle, Basic gas chromatography, Varian Aerograph
3. H Jaeger, Glass capillary chromatography in clinical medicine and pharmacology, Marcel Dekker Inc, 1986
4. Y Takeo, Handbook of High performance liquid chromatography, Sinshobo Inc, 1976
5. N Hadden etc, Basic liquid chromatography, Varian Aerograph, 1971
6. LR Snyder and JJ Kirkland, Introduction to modern liquid chromatography, John Wiley & Sons Inc, 1979
7. JW Dolan and LR Snyder, Troubleshooting LC Systems, The Humana Press Inc, 1989
8. AM Krstulovic, Chiral separations by HPLC - Applications to pharmaceutical compounds, Ellis Horwood Limited, 1989
9. Pharmacia Fine Chemicals, Chromatography of biomolecules - gel filtration, Ion exchange chromatography, affinity chromatography, 1989
10. M Brown, Liquid chromatography mass spectrometry - applications in agricultural, pharmaceutical and environmental chemistry, American Chemical Society, 1990
11. JG Kirchner, Thin layer chromatography, A Wiley-Interscience publication

12. Pharmacia Fine Chemicals, Affinity Chromatography, - principles & methods
13. Dionex, Handbook of Ion chromatography, 1986
14. BS Gitter, Introduction to chromatography, D Van Nostrand Company
15. AJ Taraszka, GLC and HPLC determination of therapeutic agents, K Tsuji and W Morozowich, 1980

V. 유기분석(Organic Analysis) 각론

1. 톨루엔

1) 혈중톨루엔

(1) 생물학적 기준농도

- 톨루엔 : 1.0mg/l(BAT)¹
0.05mg/l(작업전, BEI)²

(2) 일반적 성질 및 분석 원리

톨루엔은 유기합성, 연료, 도료, 접착제 등의 용제로 사용되고 있다. 벤젠의 발암성때문에 그 대체물질로 이용되어 왔고, 사용량과 범위가 매우 커 중독의 위험도 높은 유기용제로, 이의 생물학적 모니터링에 관한 연구가 광범위하게 이루어지고 있다.⁴⁻⁴⁶

톨루엔은 체내에 흡수되어 마노산(60%), o-, m-, p-크레졸(1%)의 형태로 대사된다.⁴ 유기용제에 폭로된 근로자에 대하여 이들 요중대사산물을 분석하여 유기용제 폭로의 지표로 이용한다.³⁴⁻⁴⁶

한편 대사되지 않은 형태로 혈액이나 소변중에 남아 있는 톨루엔 자체를 분석함으로써 직접 유기용제 폭로의 정도를 측정할 수 있다. 혈액이나 소변중의 대사되지 않은 유기용제 자체는 헤드스페이스 GC법을 이용해 분석한다.

(3) 기구 및 시약

용량플라스크 1L 1개, 10ml 4개

자동피펫 10-100, 200-1000 μ l

헤드스페이스 GC 바이알

톨루엔($d_4^{20} = 0.866$)³

이소부탄올($d^{15} = 0.806$)³

Sodium citrate

Dextrose

Citric acid

탈이온수

(4) 시료 채취 방법 및 전처리

가. 시료 채취

o 시료 채취 시기

- 작업개시전 혈액을 채취한다.(작업전 시료)
- 작업이 끝난 후 혈액을 채취한다.

o 시료 채취 요령

- 혈액중 유기용제 성분의 휘발로 인한 손실을 막기 위해 채혈 즉시 혈액을 헤드스페이스 GC 바이알에 옮기고 citric acid dextrose 용액을 가하여 마개를 한다.
- 시료 분석은 채취후 24시간 이내 완료하고 분석전까지 시료는 냉장보관한다.

나. 표준용액 조제

- ① 톨루엔 20mg($23\mu\text{l}$)을 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 200ppm 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다.
- ② 표준용액 원액을 0.5ml 취하여 10ml 용량플라스크에서 탈이온수로 희석하여 10ppm 용액을 만든다. 이 용액을 0.5, 1.5, 2.5ml씩 취하여 10ml 용량플라스크에서 탈이온수로 희석하여 0.5, 1.5, 2.5ppm의 용액을 만들고 다시 각 용액을 1/10로 희석하여 0.05, 0.15, 0.25ppm의 표준용액을 만든다. 이 6가지 농도의 표준용액을 검량선용 표준용액으로 한다. 탈이온수를 blank로 한다.

다. 내부표준용액 및 시약 조제

- ① 이소부탄올 10mg($12\mu\text{l}$)을 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 100ppm 표준용액을 만든다.
- ② 이소부탄올 100ppm 표준용액을 2ml 취하여 10ml 용량플라스크에서 탈이온

수로 희석하여 20ppm 용액을 만든다. 이 용액을 내부표준용액으로 사용한다.

③ Citric acid 4.8g, sodium citrate 13.2g, dextrose 14.7g을 1l 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 citric acid dextrose 용액을 만든다.

라. 시료 전처리

① 혈액 및 표준용액을 3분간 잘 섞어준 후 1ml를 취하여 헤드스페이스 GC 바이알에 옮긴다.

② 내부표준용액 0.5ml, citric acid dextrose 용액 0.5ml를 가하고 마개를 닫고 5분간 잘 섞어준 후 헤드스페이스 GC 분석 시료로 한다.

(5) 기기조건

- GC 조건

1) 컬럼 Carbowax-20 25m x 0.32mm ID x 0.3 μ m film thickness

2) 온도

- Oven 70℃

- Injector 220℃

- Detector(ECD) 250℃

3) Flow : Total 100ml/min

4) Split ratio 50:1

- 헤드스페이스 조건

1) 온도

- 시료 60℃

- 주입관 65℃

2) 시간

- 가열 120분

- 가압 10초

- 주입 30초

(6) 분석 결과 예시(부록 참조)

2) 요중마노산(HPLC법)

(1) 생물학적 기준농도

2.5g/g 크레아티닌(작업후반 4시간, BEI)²

1.6g/g 크레아티닌(작업후, BEI)²

(2) 분석 원리

톨루엔은 체내에 흡수되어 마노산(60%), o-, m-, p-크레졸(1%)의 형태로 대사된다.⁴ 유기용제에 폭로된 근로자에 대하여 이들 요중대사산물을 분석하여 유기용제 폭로의 지표로 이용한다.³⁴⁻⁴⁶

(3) 기구 및 시약

용량플라스크 100ml 1개, 10ml 5개

피펫 1,3,5ml

시험관 5ml

주사기 2ml

멤브레인필터 0.45μm

마노산

탈이온수

(4) 시료 채취 방법 및 전처리

가. 시료 채취

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

나. 표준용액 조제

① 마노산 3g을 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.

다. 시료 전처리

- ① 표준용액 및 시료를 미리 3분간 잘 섞어준 후 탈이온수로 20배 희석한다.
- ② 희석액을 0.45 μ m 멤브레인필터를 통과시키고 여액을 HPLC 검액으로 한다.

(5) 기기조건

- HPLC 조건

- 1) 컬럼 : C18(5 μ m), 15cm x 2.1mm
- 2) 이동상
가. (n-tetrabutylammonium bromide 5.5g + KH₂PO₄ 1.5g/1L DDW)
: MeOH = 10 : 6 (v/v)
나. 탈이온수 : 아세토니트릴 : 초산 = 900 : 100 : 0.2 (v/v)
- 3) 유속 : 0.3ml/min
- 4) 검출기 : UV 225nm

(6) 분석 결과 예시(부록 참조)

3) 요중마노산(UV법)

(1) 생물학적 기준농도

2.5g/g 크레아티닌(작업후반 4시간, BEI)²

1.6g/g 크레아티닌(작업후, BEI)²

(2) 분석 원리

톨루엔은 체내에 흡수되어 마노산(60%), o-, m-, p-크레졸(1%)의 형태로 대사된다.⁴ 유기용제에 폭로된 근로자에 대하여 이들 요중대사산물을 분석하여 유기용제 폭로의 지표로 이용한다.³⁴⁻⁴⁶

요중마노산을 UV법으로 분석할 경우 반응시약이 마노산뿐 아니라 메틸마노산에도 반응하여 이들의 총량이 마노산의 양으로 분석되므로, 마노산에 대한 특이성이 없다는 단점이 있다. 따라서 각 대사산물의 분리정량이 가능한 HPLC-UV 검출법으로 분석하는 것이 바람직하다.

(3) 기구 및 시약

용량플라스크 100ml 1개, 10ml 4개

피펫 200μl, 500μl, 1ml, 3ml

마개달린 시험관 10ml

마노산

피리딘

Benzenesulfonyl chloride

에탄올

탈이온수

(4) 시료 채취 방법 및 전처리

가. 시료 채취

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

나. 표준용액 조제

① 마노산 1g을 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 마노산 1000ppm의 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다.

② 표준용액 원액을 1, 2, 3, 4ml 취하여 10ml 용량플라스크에서 희석하여 마
노산 100, 200, 300, 400ppm의 검량선용 표준용액을 제조한다.

다. 시료 전처리

① 소변은 측정전 미리 3분정도 잘 섞어준 후, 시료(소변이나 표준용액) 0.5ml
에 pyridine 0.5ml를 가하고 benzenesulfonyl chloride 0.2ml를 가한 후 5초간 섞
는다.

② 20 - 30℃에서 30분 방치한다.

③ 5ml의 에탄올을 가해 반응을 종결시키고 잘 흔들어 섞는다.

④ 침전이 있으면 원심분리하여 제거하고, 에탄올을 blank로 하여 410nm에서
흡광도를 측정한다.

(5) 기기조건

- UV 조건

검출기 : UV 410nm

4) 요중 o-, m-, p-크레졸

(1) 생물학적 기준농도

- o-크레졸 : 3.0mg/l(BAT)¹

(2) 분석 원리

톨루엔은 체내에 흡수되어 마노산(60%), o-, m-, p-크레졸(1%)의 형태로 대사된다.⁴ 일반적으로 마노산을 톨루엔의 생체 지표물질로 이용하고 있으나, 톨루엔에 노출되지 않은 정상인에서도 마노산이 검출되고 있으므로, 마노산만을 톨루엔 폭로지표로 사용하는 것이 불충분한 경우가 있다. 이 경우, 크레졸은 흡수된 톨루엔중 1%의 적은 비율만이 이 형태로 대사되어 미량 분석이 필요하나, 톨루엔에 대한 폭로정도를 반영해 주는 선택적인 지표물질로 사용할 수 있다는 장점이 있다.

(3) 기구 및 시약

용량플라스크 100ml 1개, 10ml 4개

자동피펫 1000 μ l

마개달린 시험관 10ml

탈이온수

o-크레졸($d_4^{20} = 1.047$)³

m-크레졸($d_4^{20} = 1.034$)³

p-크레졸($d_4^{20} = 1.034$)³

Isopropyl ether

염산

(4) 시료 채취 방법 및 전처리

가. 표준용액 조제

① o-크레졸 100mg(105 μ l), m-크레졸, p-크레졸 각 100mg(103 μ l)을 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 1000ppm 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다.

② 표준용액 원액을 10ml 용량플라스크에서 희석하여 20, 40, 60ppm의 검량선

용 표준용액으로 한다. 탈이온수를 blank로 한다.

나. 시료 전처리

- ① 소변을 3분간 잘 섞어준 후 1ml를 취하여 마개달린 시험관에 옮긴다.
- ② 탈이온수 4ml, 진한 염산 1ml를 가하고 100℃에서 30분 가수분해시킨다.
- ③ 시험관을 식히고 isopropyl ether 1ml를 가한 후 손으로 잘 흔든 후 3000rpm에서 8분 원심분리한다.
- ④ 위층의 isopropyl ether층을 취하여 GC 검액으로 한다.

(5) 기기조건

- GC 조건

1) 컬럼 Carbowax-20 50m x 0.32mm ID x 0.3μm film thickness

2) 온도

- Oven 180℃
- Injector 250℃
- Detector(FID) 250℃

3) Flow : Total 100ml/min

4) Split ratio 50:1

(6) 분석 결과 예시(부록 참조)

2. 스티렌

1) 혈중스티렌

(1) 생물학적 기준농도

- 스티렌 : 0.55mg/l (작업후, BEI)²
 0.02mg/l (작업전, BEI)²

(2) 일반적 성질 및 분석 원리

스티렌은 플라스틱, 수지, 합성 고무의 원료가 되는 유기용제로, 인체에 흡수될 경우 신경계 장애 등의 독성을 나타낸다.⁴⁷⁻⁵⁷ 스티렌의 생물학적 모니터링에 관한 많은 연구가 이루어져 왔으며,⁵⁸⁻⁹⁰ 생물학적 모니터링을 위해 스티렌의 대사산물인 만델린산(85%), 페닐글리옥실산(10%)⁴을 분석하여 스티렌 폭로의 생체 지표로 이용한다.⁷³⁻⁹⁰

한편 대사되지 않은 형태로 혈액중에 남아 있는 스티렌 자체를 분석함으로써 직접 유기용제 폭로의 정도를 측정할 수 있다. 혈액이나 소변중의 대사되지 않은 유기용제 자체는 헤드스페이스 GC법을 이용해 분석한다. 헤드스페이스 GC법에 관해서는 유기용제 총론의 헤드스페이스 GC법에 서술하였다.

(3) 기구 및 시약

용량플라스크 1L 1개, 10ml 4개

자동피펫 10-100, 250-1000 μl

헤드스페이스 GC 바이알

스티렌($d^{20} = 0.906$)³

이소부탄올($d^{15} = 0.806$)³

Sodium citrate

Dextrose

Citric acid

탈이온수

(4) 시료 채취 방법 및 전처리

가. 시료 채취

○ 시료 채취 시기

- 작업개시전 혈액을 채취한다.(작업전 시료)
- 작업이 끝난 후 혈액을 채취한다.

○ 시료 채취 요령

- 혈액중 유기용제 성분의 휘발로 인한 손실을 막기 위해 채혈 즉시 혈액을 헤드스페이스 GC 바이알에 옮기고 citric acid dextrose 용액을 가하여 마개를 한다.
- 시료 분석은 채취후 24시간 이내 완료하고 분석전까지 시료는 냉장보관한다.

나. 표준용액 조제

① 스티렌 10mg($11\mu\text{l}$)을 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 100ppm 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다.

② 표준용액 원액을 1ml 취하여 10ml 용량플라스크에서 탈이온수로 희석하여 10ppm 용액을 만든다. 이 용액을 0.5, 1.5, 2.5ml씩 취하여 10ml 용량플라스크에서 탈이온수로 희석하여 0.5, 1.5, 2.5ppm의 검량선용 표준용액으로 한다. 탈이온수를 blank로 한다.

다. 내부표준용액 및 시약 조제

① 이소부탄을 10mg($12\mu\text{l}$)을 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 100ppm 표준용액을 만든다.

② 이소부탄을 100ppm 표준용액을 2ml 취하여 10ml 용량플라스크에서 탈이온수로 희석하여 20ppm 용액을 만든다. 이 용액을 내부표준용액으로 사용한다.

③ Citric acid 4.8g, sodium citrate 13.2g, dextrose 14.7g을 1l 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 citric acid dextrose 용액을 만든다.

라. 시료 전처리

① 혈액 및 표준용액을 3분간 잘 섞어준 후 1ml를 취하여 헤드스페이스 GC 바이알에 옮긴다.

② 내부표준용액 0.5ml, citric acid dextrose 용액 0.5ml를 가하고 마개를 닫고 5분간 잘 섞어준 후 헤드스페이스 GC 분석 시료로 한다.

(5) 기기조건

- GC 조건

1) 컬럼 Carbowax-20 25m x 0.32mm ID x 0.3 μ m film thickness

2) 온도

- Oven 70℃
- Injector 220℃
- Detector(ECD) 250℃

3) Flow : Total 100ml/min

4) Split ratio 50:1

- 헤드스페이스 조건

1) 온도

- 시료 60℃
- 주입관 65℃

2) 시간

- 가열 120분
- 가압 10초
- 주입 30초

(6) 분석 결과 예시(부록 참조)

2) 요중만델린산,페닐글리옥실산

(1) 생물학적 기준농도

- 만델린산 : 400mg/g 크레아티닌(BAT)¹
800mg/g 크레아티닌(작업후, BEI)²
300mg/g 크레아티닌(작업전, BEI)²
- 페닐글리옥실산 : 240mg/g 크레아티닌(작업후, BEI)²
100mg/g 크레아티닌(작업전, BEI)²
- 만델린산+페닐글리옥실산 : 500mg/g 크레아티닌(BAT)¹

(2) 분석 원리

스티렌은 체내에 흡수되어 만델린산(85%), 페닐글리옥실산(10%)의 형태로 대사된다.⁴ 이를 분석하여 스티렌 폭로의 생체 지표로 이용한다.⁷³⁻⁹⁰

(3) 기구 및 시약

용량플라스크 100ml 1개, 10ml 5개
피펫 1,3,5ml
시험관 5ml
주사기 2ml
멤브레인필터 0.45μm
만델린산
페닐글리옥실산
탈이온수

(4) 시료 채취 방법 및 전처리

가. 시료 채취

- 작업이 끝난 후 소변을 채취한다.(작업후 시료)
- 작업개시전 소변을 채취한다.(작업전 시료)

나. 표준용액 조제

① 만델린산, 페닐글리옥실산 각 0.5g을 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 만델린산, 페닐글리옥실산 500ppm의 표준용액을 만든다. 이것

을 표준용액 원액으로 한다.

② 표준용액 원액을 1, 3, 5, 7, 9ml 취하여 10ml 용량플라스크에서 희석하여 만델린산, 페닐글리옥실산 50, 150, 250, 350, 450ppm의 검량선용 표준용액을 제조한다.

다. 시료 전처리

- ① 표준용액 및 시료를 미리 3분간 잘 섞어준 후 탈이온수로 20배 희석한다.
- ② 희석액을 0.45 μ m 멤브레인필터를 통과시키고 여액을 HPLC 검액으로 한다.

(5) 기기조건

- HPLC 조건

1) 컬럼 : C18(5 μ m), 15cm x 2.1mm

2) 이동상

가. (n-tetrabutylammonium bromide 5.5g + KH₂PO₄ 1.5g/1L DDW)
: MeOH = 10 : 6 (v/v)

나. 탈이온수 : 아세트니트릴 : 초산 = 900 : 100 : 0.2 (v/v)

3) 유속 : 0.3ml/min

4) 검출기 : UV 225nm

(6) 분석 결과 예시(부록 참조)

3. 크실렌

1) 혈중크실렌

(1) 생물학적 기준농도

- 크실렌 : 1.5mg/l(BAT)¹

(2) 분석 원리

크실렌은 o-,m-,p-의 이성질체를 가지고, 체내에 흡수되어 대사된 후 대부분이 o-, m-, p-메틸마노산(95%)으로 대사된다.⁴ 유기용제에 폭로된 근로자에 대하여 이들 요증대사산물을 분석하여 유기용제 폭로의 지표로 이용한다.^{78,91,92}

한편 대사되지 않은 형태로 혈액중에 남아 있는 크실렌 자체를 분석함으로써 직접 유기용제 폭로의 정도를 측정할 수 있다.^{25,36,40} 혈액이나 소변중의 대사되지 않은 유기용제 자체는 헤드스페이스 GC법을 이용해 분석한다. 헤드스페이스 GC법에 관해서는 유기용제 총론의 헤드스페이스 GC법에 서술하였다.

(3) 기구 및 시약

용량플라스크 1L 1개, 10ml 4개

자동피펫 10-100, 250-1000 μ l

헤드스페이스 GC 바이알

o-크실렌($d_4^{20} = 0.88$)³

m-크실렌($d_4^{15} = 0.868$)³

p-크실렌($d_4^{20} = 0.861$)³

이소부탄올($d^{15} = 0.806$)³

Sodium citrate

Dextrose

Citric acid

탈이온수

(4) 시료 채취 방법 및 전처리

가. 시료 채취

o 시료 채취 시기

- 작업개시전 혈액을 채취한다.(작업전 시료)
- 작업이 끝난 후 혈액을 채취한다.

o 시료 채취 요령

- 혈액중 유기용제 성분의 휘발로 인한 손실을 막기 위해 채혈 즉시 혈액을 헤드스페이스 GC 바이알에 옮기고 citric acid dextrose 용액을 가하여 마개를 한다.
- 시료 분석은 채취후 24시간 이내 완료하고 분석전까지 시료는 냉장보관한다.

나. 표준용액 조제

① o-,m-p-크실렌 각 20mg($23\mu\text{l}$)을 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 200ppm 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다.

② 표준용액 원액을 0.5ml 취하여 10ml 용량플라스크에서 탈이온수로 희석하여 10ppm 용액을 만든다. 이 용액을 0.5, 1.5, 2.5ml씩 취하여 10ml 용량플라스크에서 탈이온수로 희석하여 0.5, 1.5, 2.5ppm의 검량선용 표준용액으로 한다. 탈이온수를 blank로 한다.

다. 내부표준용액 및 시약 조제

① 이소부탄을 10mg($12\mu\text{l}$)을 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 100ppm 표준용액을 만든다.

② 이소부탄을 100ppm 표준용액을 2ml 취하여 10ml 용량플라스크에서 탈이온수로 희석하여 20ppm 용액을 만든다. 이 용액을 내부표준용액으로 사용한다.

③ Citric acid 4.8g, sodium citrate 13.2g, dextrose 14.7g을 1l 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 citric acid dextrose 용액을 만든다.

라. 시료 전처리

- ① 혈액 및 표준용액을 3분간 잘 섞어준 후 1ml를 취하여 헤드스페이스 GC

바이알에 옮긴다.

② 내부표준용액 0.5ml, citric acid dextrose 용액 0.5ml를 가하고 마개를 닫고 5분간 잘 섞어준 후 헤드스페이스 GC 분석 시료로 한다.

(5) 기기조건

- GC 조건

1) 컬럼 Carbowax-20 25m x 0.32mm ID x 0.3 μ m film thickness

2) 온도

- Oven 70℃
- Injector 220℃
- Detector(ECD) 250℃

3) Flow : Total 100ml/min

4) Split ratio 50:1

- 헤드스페이스 조건

1) 온도

- 시료 60℃
- 주입관 65℃

2) 시간

- 가열 120분
- 가압 10초
- 주입 30초

(6) 분석 결과 예시(부록 참조)

2) 요중메틸마노산

(1) 생물학적 기준농도

1.5g/g 크레아티닌(BEI)²

(2) 분석 원리

크실렌은 o-,m-,p-의 이성질체를 가지고, 체내에 흡수되어 대사된 후 대부분이 o-, m-, p-메틸마노산(95%)으로 대사된다.⁴ 유기용제에 폭로된 근로자에 대하여 이들 요중대사산물을 분석하여 유기용제 폭로의 지표로 이용한다.^{78,91,92}

(3) 기구 및 시약

용량플라스크 100ml 1개, 10ml 5개

피펫 1,3,5ml

시험관 5ml

주사기 2ml

멤브레인필터 0.45μm

o-메틸마노산

m-메틸마노산

p-메틸마노산

탈이온수

(4) 시료 채취 방법 및 전처리

가. 시료 채취

- 작업이 끝난 후 소변을 채취한다.

나. 표준용액 조제

① o-,m-,p-메틸마노산 각 0.5g을 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 o-메틸마노산, m-메틸마노산, p-메틸마노산, 500ppm의 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다.

② 표준용액 원액을 1, 3, 5, 7, 9ml 취하여 10ml 용량플라스크에서 희석하여 o-메틸마노산, m-메틸마노산, p-메틸마노산 50, 150, 250, 350, 450ppm의 검량선용 표준용액을 제조한다.

다. 시료 전처리

- ① 표준용액 및 시료를 미리 3분간 잘 섞어준 후 탈이온수로 20배 희석한다.
- ② 희석액을 0.45 μ m 멤브레인필터를 통과시키고 여액을 HPLC 검액으로 한다.

(5) 기기조건

- HPLC 조건

- 1) 컬럼 : C18(5 μ m), 15cm x 2.1mm
- 2) 이동상
가. (n-tetrabutylammonium bromide 5.5g + KH₂PO₄ 1.5g/1L DDW)
: MeOH = 10 : 6 (v/v)
나. 탈이온수 : 아세토니트릴 : 초산 = 900 : 100 : 0.2 (v/v)
- 3) 유속 : 0.3ml/min
- 4) 검출기 : UV 225nm

(6) 분석 결과 예시(부록 참조)

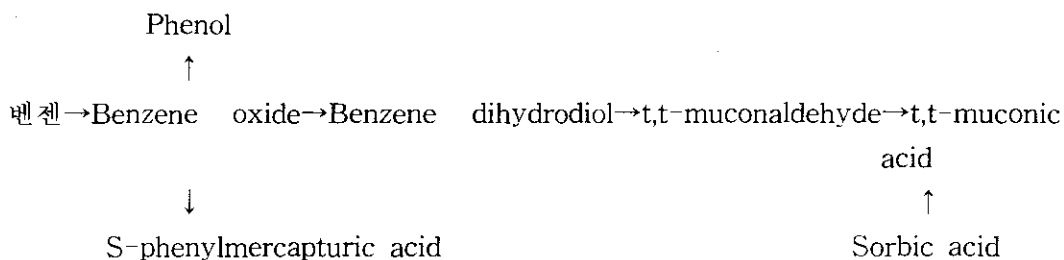
4. 벤젠

1) 요중 t,t-muconic acid

(1) 분석 원리

벤젠은 그 발암성이 알려지기 전까지 광범위한 범위에 걸쳐서 산업에 사용되어 온 유기용제이다. 현재 그 독성으로 인하여 톨루엔과 같은 독성이 적은 용제로 대체되고 있으나, 아직도 그 사용례가 발견되고 있다. 또한, 석유중 천연성분으로 존재하므로 사업장뿐 아니라 일반 환경중에도 존재하게 된다.

벤젠은 체내에 들어와 일부는 호기중으로, 일부는 대사과정을 거쳐 페놀, t,t-muconic acid, S-phenylmercapturic acid, catechol, quinol, 1,2,4-benzenetriol, N-acetyl-cysteine, thiophenol, N-7 phenylguanine 등으로 변화하므로 이들을 분석하여 벤젠 폭로 지표로 한다.⁹³⁻¹⁰⁷ 이외에도 N-phenylvaline adduct, 헤모글로빈이나 알부민 adduct를 분석하여 벤젠 폭로의 지표로 한 예가 있다.⁹⁸



벤젠폭로의 대표적인 지표물질로 페놀을 대상으로 하여 왔으나, 이와 구조가 유사한 일반적인 식품 첨가물 등도 대사후 페놀로 변화하므로 벤젠에 특이한 지표물질로 적합하지 못하다는 단점이 있다. 한편, 페놀은 고농도의 벤젠 폭로에 대해서는 어느정도 그 폭로를 반영하나 저농도의 폭로 지표로는 적절하지 못하다. 따라서 페놀보다 저농도의 벤젠 폭로를 특이적으로 반영하는 대사산물로 알려진 t,t-muconic acid를 분석하여 벤젠의 폭로 정도를 조사한다.¹⁰⁵⁻¹⁰⁷

다음에 대기중 벤젠농도에 따른 t,t-muconic acid의 농도를 표시하였다.

대기중 벤젠	0.6	1	2	4	6 ppm
요중 t,t-muconic acid	1.6	2	3	5	7 mg/L

(2) 기구 및 시약

용량플라스크 1000ml 1개, 100ml 3개, 10ml 6개

메스플라스크 100ml, 1000ml

자동피펫 100-1000 μ l, 1000 μ l

피펫 10ml

시험관 10ml

진공 고상추출장치

C₁₈ 고상추출카트리지(1000mg)

t,t-Muconic acid

탈이온수

메탄올(HPLC급)

에탄올

초산

(3) 시료 채취 방법 및 전처리

가. 시료 채취

① 근무 직후 소변을 받아 20ml의 소변에 200 μ l의 초산을 가해 잘 섞는다. 시료채취후 5일이내 분석하면 냉장보관하고 5일 이후 분석하려면 냉동보관한다.

② 냉동보관한 시료는 사용전 40℃에서 녹이고 상온으로 식힌 후 30분간 잘 섞어준 후 사용한다.

나. 표준용액 조제

① t,t-Muconic acid 10mg을 100ml 용량플라스크에 옮기고 에탄올 5ml를 가하여 녹인 후 1% 초산으로 표선을 채워 100ppm의 표준용액을 만든다.

② 100ppm의 표준용액을 20ml 취하여 100ml 용량플라스크에 옮기고 1% 초산으로 표선을 채워 20ppm의 표준용액을 만든다. 이를 표준용액 원액으로 한다.

③ 표준용액 원액을 0.5, 2.5, 5.0, 7.5ml를 취하여 10ml 용량플라스크에서 1% 초산으로 희석하여 t,t-muconic acid 1, 5, 10, 15ppm의 표준용액을 제조한다. 1, 5ppm의 표준용액을 각각 1ml씩 취하여 10ml 용량플라스크에서 1% 초산으로 희석하여 0.1, 0.5ppm의 표준용액을 만들어 이들 7농도의 표준용액을 사용하여 검량선을 작성한다. 1% 초산용액을 Blank로 한다.

다. 시약, 이동상 조제

① 초산 10ml를 1000ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 1% 초산용액을 만든다.

② 1% 초산 900ml와 메탄올 100ml를 혼합하고 탈기하여 이동상으로 사용한다.

라. 시료 및 표준용액 전처리

① 진공 고상추출장치에 C₁₈ 고상추출카트리지를 꽂고 메탄올 3ml, 탈이온수 3ml로 세척해 둔다.

② 카트리지에 소변 및 표준용액 1ml를 가하고 10-15분에 걸쳐 천천히 통과시킨다. 카트리지에 탈이온수 3ml를 가한 후 즉시 진공을 걸어 컬럼내의 총진제를 건조시킨다.

③ 10% 초산 2ml를 2회 가해 컬럼을 씻어낸 용액을 HPLC용 검액으로 한다.

1.4. 기기조건

- HPLC 조건

1) 컬럼 : C₁₈(5μm), 15cm x 2.1mm

2) 이동상

1% 초산 : 메탄올 = 10:1(v/v)

3) 유속 : 0.3ml/min

4) 검출기 : UV검출기(259nm)

2) 요증페놀

(1) 생물학적 기준농도

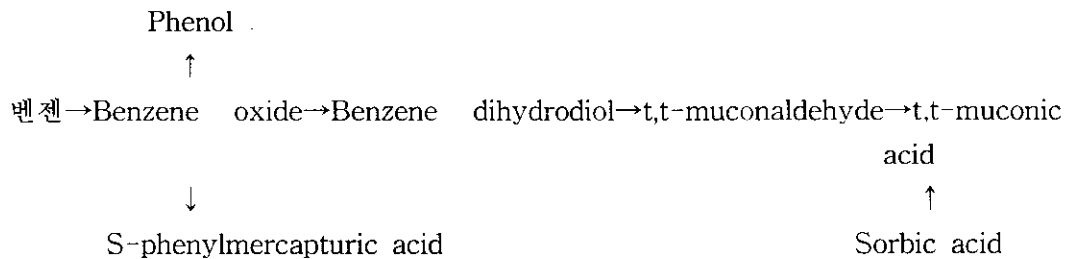
300mg/l(BAT)¹

250mg/g 크레아티닌(BEI)²

(2) 분석 원리

벤젠은 그 발암성이 알려지기 전까지 광범위한 범위에 걸쳐서 산업에 사용되어 온 유기용제이다. 현재 그 독성으로 인하여 톨루엔과 같은 독성이 적은 용제로 대체되고 있으나, 아직도 그 사용례가 발견되고 있다. 또한, 석유중 천연성분으로 존재하므로 사업장뿐 아니라 일반 환경중에도 존재하게 된다.

벤젠은 체내에 들어와 일부는 호기중으로, 일부는 대사과정을 거쳐 페놀, t,t-muconic acid, S-phenylmercapturic acid, catechol, quinol, 1,2,4-benzenetriol, N-acetyl-cysteine, thiophenol, N-7 phenylguanine 등으로 변화하므로 이들을 분석하여 벤젠 폭로 지표로 한다.⁹³⁻¹⁰⁷ 이외에도 N-phenylvaline adduct, 헤모글로빈이나 알부민 adduct를 분석하여 벤젠 폭로의 지표로 한 예가 있다.⁹⁸



(3) 기구 및 시약

용량플라스크 100ml 1개, 10ml 4개

자동피펫 1000 μ l

마개달린 시험관 10ml

탈이온수

페놀

Isopropyl ether

염산

(4) 시료 채취 방법 및 전처리

가. 표준용액 조제

① 페놀 100mg을 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 1000ppm 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다.

② 표준용액 원액을 1, 3, 5ml씩 취하여 10ml 용량플라스크에서 탈이온수로 희석하여 100, 300, 500ppm의 검량선용 표준용액으로 한다. 탈이온수를 blank로 한다.

나. 소변 전처리

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

② 탈이온수 4ml, 진한 염산 1ml를 가하고 100℃에서 30분 가수분해시킨다.

③ 시험관을 식히고 isopropyl ether 1ml를 가한 후 손으로 잘 흔든 후 3000rpm에서 8분 원심분리한다.

④ 위층의 isopropyl ether층을 취하여 GC 검액으로 한다.

(5) 기기조건

- GC 조건

1) 컬럼 Carbowax-20 50m x 0.32mm ID x 0.3μm film thickness

2) 온도

- Oven 180℃

- Injector 250℃

- Detector(FID) 250℃

3) Flow : Total 100ml/min

4) Split ratio 50:1

(6) 분석 결과 예시(부록 참조)

5. Trichloroethylene

1) 혈중트리클로로에탄올

(1) 생물학적 기준농도

5mg/l(BAT)¹

4mg/l(BEI)²

(2) 분석 원리

Trichloroethylene은 세척, 윤활제, 추출용제, 합성 원료 등으로 사용되는 유기용제로, 이에 중독되면 피부염, 신경계장애 등이 유발된다.¹⁰⁸⁻¹¹⁶ 체내에 흡수된 trichloroethylene은 삼염화초산(18%), 삼염화에탄올(33%)의 형태로 대사된다.⁴ 이중 혈중 삼염화에탄올의 유리형을 헤드스페이스 GC법을 이용해 분석하여 trichloroethylene의 생물학적 폭로 지표로 이용한다.¹²⁸⁻¹³⁰

(3) 기구 및 시약

용량플라스크 1L 1개, 10ml 4개

자동피펫 10-100, 250-1000 μ l

헤드스페이스 GC 바이알

삼염화에탄올($d_{20}^{20} = 1.55$)³

이소부탄올($d^{15} = 0.806$)³

Sodium citrate

Dextrose

Citric acid

탈이온수

(4) 시료 채취 방법 및 전처리

가. 시료 채취

o 시료 채취 시기

- 작업이 끝난 후 혈액을 채취한다.

o 시료 채취 요령

- 혈액중 유기용제 성분의 휘발로 인한 손실을 막기 위해 채혈 즉시 혈액을 헤드스페이스 GC 바이알에 옮기고 citric acid dextrose 용액을 가하여 마개를 한다.
- 시료 분석은 채취후 24시간 이내 완료하고 분석전까지 시료는 냉장보관한다.

나. 표준용액 조제

- ① 트리클로로에탄올 20mg($13\mu\text{l}$)을 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 200ppm 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다.
- ② 표준용액 원액을 0.5ml 취하여 10ml 용량플라스크에서 탈이온수로 희석하여 10ppm 용액을 만든다. 이 용액을 1, 3, 5ml씩 취하여 10ml 용량플라스크에서 탈이온수로 희석하여 1, 3, 5ppm의 용액을 만들어 검량선용 표준용액으로 한다. 탈이온수를 blank로 한다.

다. 내부표준용액 및 시약 조제

- ① 이소부탄올 10mg($12\mu\text{l}$)을 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 100ppm 표준용액을 만든다.
- ② 이소부탄올 100ppm 표준용액을 2ml 취하여 10ml 용량플라스크에서 탈이온수로 희석하여 20ppm 용액을 만든다. 이 용액을 내부표준용액으로 사용한다.
- ③ Citric acid 4.8g, sodium citrate 13.2g, dextrose 14.7g을 1l 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 citric acid dextrose 용액을 만든다.

라. 시료 전처리

- ① 혈액 및 표준용액을 3분간 잘 섞어준 후 1ml를 취하여 헤드스페이스 GC 바이알에 옮긴다.
- ② 내부표준용액 0.5ml, citric acid dextrose 용액 0.5ml를 가하고 마개를 닫고 5분간 잘 섞어준 후 헤드스페이스 GC 분석 시료로 한다.

(5) 기기조건

- GC 조건

1) 컬럼 Carbowax-20 25m x 0.32mm ID x 0.3 μ m film thickness

2) 온도

- Oven 70℃
- Injector 220℃
- Detector(ECD) 250℃

3) Flow : Total 100ml/min

4) Split ratio 50:1

- 헤드스페이스 조건

1) 온도

- 시료 60℃
- 주입관 65℃

2) 시간

- 가열 120분
- 가압 10초
- 주입 30초

(6) 분석 결과 예시(부록 참조)

2) 요중총3염화물

(1) 생물학적 기준농도

- 삼염화초산 : 100mg/l(BAT)¹
100mg/g 크레아티닌(BEI)²
- 총3염화물(삼염화초산+삼염화에탄올) : 300mg/g 크레아티닌
(BEI)²

(2) 분석 원리

Trichloroethylene은 세척, 윤활제, 추출용제, 합성 원료 등으로 사용되는 유기용제로, 이에 중독되면 피부염, 신경계장애 등이 유발된다.¹⁰⁸⁻¹¹⁶ 체내에 흡수된 trichloroethylene은 삼염화초산(18%), 삼염화에탄올(33%)의 형태로 대사된다.⁴ 삼염화에탄올은 유리형뿐 아니라 포합체로도 배설되므로 산가수분해하고 이를 분석하여 삼염화초산, 삼염화에탄올의 합을 요중총3염화물로 하여 trichloroethylene의 생물학적 폭로 지표로 이용한다.¹¹⁷⁻¹³⁰

(3) 기구 및 시약

용량플라스크 100ml 1개, 10ml 5개
피펫 10-100μl, 200-1000μl
헤드스페이스 GC용 바이알
삼염화에탄올($d_{20}^{20} = 1.55$)³
삼염화초산
1,2-Dibromomethane($d_{25}^{25} = 2.172$)³
탈이온수
황산
메탄올

(4) 시료 채취 방법 및 전처리

가. 시료 채취

- 삼염화초산 분석을 위해서는 작업이 끝난 후 소변을 채취한다.
- 삼염화에탄올 분석을 위해 한주일의 작업 종료후 소변을 채취한다.

나. 표준용액 조제

① 삼염화에탄올 100mg(65 μ l), 삼염화초산 100mg을 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 1000ppm의 표준용액을 만든다. 이를 표준용액 원액으로 한다.

② 표준용액 원액을 10ml 취하여 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 100ppm 용액을 만든다. 100ppm 용액을 2, 4, 6, 8ml 취하여 10ml 용량플라스크에서 탈이온수로 희석하여 삼염화에탄올, 삼염화초산 20,40,60,80ppm의 검량선용 표준용액을 제조한다.

다. 내부표준용액 조제

① 1,2-Dibromomethane 100mg(46 μ l)를 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 1000ppm의 표준용액을 만든다. 이를 내부표준용액 원액으로 한다.

② 내부표준용액 원액을 10ml 취하여 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 100ppm 용액을 만든다. 100ppm 용액을 4ml 취하여 10ml 용량플라스크에서 탈이온수로 희석하여 40ppm의 내부 표준용액을 제조한다.

라. 시료 및 표준용액 전처리

① 표준용액 및 시료를 미리 3분간 잘 섞은 후 100 μ l를 취하여 헤드스페이스용 바이알에 옮기고 내부표준용액 100 μ l, 황산 500 μ l, 메탄올 100 μ l를 가한다.

② 마개를 하여 헤드스페이스 장치에 넣고 GC로 측정한다.

(5) 기기조건

- GC 조건

1) 컬럼 Carbowax-20 25m x 0.32mm ID x 0.3 μ m film thickness

2) 온도

- Oven 80 $^{\circ}$ C(5분) - 10 $^{\circ}$ C/분 - 150 $^{\circ}$ C(3분)

- Injector 220 $^{\circ}$ C

- Detector(ECD) 250 $^{\circ}$ C

3) Flow : Total 100ml/min

4) Split ratio 50:1

- 헤드스페이스 조건

1) 온도 .

- 시료 80℃

- 주입관 85℃

2) 시간

- 가열 60분

- 가압 20초

- 주입 10초

(6) 분석 결과 예시(부록 참조)

6. 알콜,케톤류

1. 요증메틸알코올, 에틸알코올, 이소프로필알코올, 아세톤, 메틸에틸케톤, 메틸 이소부틸케톤¹³¹⁻¹³⁶

(1) 생물학적 기준농도

- 메탄올 : 300mg/l(BAT)¹
15mg/l(BEI)²
- 아세톤 : 80mg/l(아세톤 단독 폭로시)(BAT)¹
100mg/l(BEI)²
50mg/l(이소프로필알코올 단독 폭로시)(BAT)¹
- 메틸에틸케톤 : 2mg/l(BEI)²
- 메틸이소부틸케톤 : 2mg/l(BEI)²

(2) 기구 및 시약

용량플라스크 100ml 9개
자동피펫 500-2500 μ l, 10ml
헤드스페이스 바이알 10ml
메탄올($d_4^{20} = 0.792$)³
에탄올($d_4^{20} = 0.789$)³
이소프로판올($d_4^{20} = 0.785$)³
아세톤($d_{25}^{25} = 0.788$)³
메틸에틸케톤($d_4^{20} = 0.805$)³
메틸이소부틸케톤($d_4^{20} = 0.801$)³
탈아온수

(3) 시료 채취 방법 및 전처리

가. 시료 채취

- 작업이 끝난 직후 소변을 채취한다.

나. 표준용액 조제

① 메탄올 1g(12.6ml), 에탄올 및 이소프로판올 1g(12.7ml), 아세톤 1g(12.7ml), 메틸에틸케톤 0.1g (1.24ml), 메틸이소부틸케톤 0.1g(1.25ml)을 각각 100ml 용량 플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 메탄올, 에탄올, 아세톤은 10,000ppm, 메틸에틸케톤, 메틸이소부틸케톤은 1,000ppm의 표준용액을 만든다.

② 10,000ppm 메탄올 표준용액 10ml, 10,000ppm 에탄올 및 이소프로판올 표준용액 각 3ml, 10,000ppm 아세톤 표준용액 5ml, 1,000ppm 메틸에틸케톤, 메틸이소부틸케톤 표준용액 1ml를 취하여 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 메탄올 1,000ppm, 에탄올 및 이소프로판올 300ppm, 아세톤 500ppm, 메틸에틸케톤, 메틸이소부틸케톤은 10ppm의 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다.

③ 표준용액 원액을 각각 1, 2, 3ml 취하고 이를 10ml 용량플라스크에서 희석하여 메탄올 100, 200, 300ppm, 에탄올 및 이소프로판올 30, 60, 90ppm, 아세톤 50, 100, 150ppm, 메틸에틸케톤, 메틸이소부틸케톤은 1, 2, 3ppm의 검량선용 표준용액으로 한다. 탈이온수를 blank로 한다.

다. 시료 전처리

① 시료나 표준용액을 3분간 잘 섞어준 후 2ml를 취하여 헤드스페이스 바이알에 옮겨 헤드스페이스 GC용 검액으로 한다.

(4) 기기조건

- GC 조건

1) 컬럼 Carbowax 20M 60m x 0.32mm ID x 0.3 μ m film thickness

2) 온도

- Oven 60 $^{\circ}$ C

- Injector 250 $^{\circ}$ C

- Detector(FID) 300 $^{\circ}$ C

3) Flow : Total 100ml/min

4) Split ratio 50:1

- 헤드스페이스 조건

1) 온도

- 시료 50 $^{\circ}$ C

- 주입관 150 $^{\circ}$ C

2) 시간

- 가열 15분
- 가압 0.5분
- 주입 0.02분

(6) 분석 결과 예시(부록 참조)

7. 헥산

1) 요 중 2,5-hexanedione

(1) 생물학적 기준농도

5mg/l(BAT)¹

5mg/g 크레아티닌(BEI)²

(2) 분석 원리

헥산은 접착, 세척, 추출 및 용제로 사용되며, 인체에 중독시 신경독성을 나타낸다. 헥산은 체내에 흡수된 후 대사과정을 거쳐 2,6-hexanedione으로 변화하여 소변중으로 배설되고, 이를 분석하여 헥산 폭로의 생물학적 지표로 한다.¹³⁶⁻¹⁴²

(3) 기구 및 시약

용량플라스크 100ml 2개, 10ml 4개

자동피펫 500-2500 μ l

마개달린 시험관 10ml

탈이온수

2,5-Hexanedione($d_4^{20}=0.970$)³

Cyclohexanone ($d_4^{20}=0.948$)³

디클로로메탄

염산

황산나트륨

(4) 시료 채취 방법 및 전처리

가. 시료 채취

- 작업이 끝난 직후 소변을 채취한다.

나. 표준용액 조제

① 2,5-Hexanedione 100mg(103.1 μ l)을 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 1000ppm 표준용액을 만든다. 1000ppm 표준용액을 1ml 취하여 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 10ppm 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다.

② 표준용액 원액을 각각 1, 3, 5ml 취하고 이를 10ml 용량플라스크에서 희석하여 1, 3, 5ppm의 검량선용 표준용액으로 한다. 탈이온수를 blank로 한다.

다. 내부표준용액 조제

① 내부표준물질로 cyclohexanone을 사용하여, cyclohexanone 6mg(6.3 μ l)을 10ml 용량플라스크에 취하여 디클로로메탄으로 표선을 맞추어 600ppm의 농도로 한다.

② 600ppm의 cyclohexanone을 다시 디클로로메탄으로 100배 희석하여 6ppm의 농도로 만들고 이를 성분 물질의 추출에 사용한다.

라. 소변 전처리

① 시료 및 표준용액을 3분간 잘 섞어준 후 2ml를 취하여 마개달린 시험관에 옮긴다.

② 염산 0.1ml를 가하고 100℃에서 30분 가열하여 가수분해한 후 식힌다.

③ 3ppm의 농도로 cyclohexanone(내부표준물질)이 첨가된 디클로로메탄 2ml를 가하여 30초간 흔들어 추출하고 3000rpm에서 8분 원심분리한다.

④ 위층의 수층을 제거한 후 황산나트륨 1g을 가하고 잘 흔들어 수분을 제거하고 다시 3000rpm에서 8분 원심분리한다.

⑤ 디클로로메탄층을 취하여 GC 검액으로 한다.

(5) 기기조건

- GC 조건

1) 컬럼 OV-1 25m x 0.32mm ID x 0.3 μ m film thickness

2) 온도

- Oven 40℃(1분) - (10℃/1분) - 200℃

- Injector 210℃

- Detector(FID) 260℃

3) Flow : Total 100ml/min

4) Split ratio 50:1

(6) 분석 결과 예시(부록 참조)

8. 디메틸포름아미드

1) 요 중 N-methylformamide(NMF)

(1) 생물학적 기준농도

15mg/l(BAT)¹

20mg/g 크레아티닌(BEI)²

(2) 분석 원리

N,N-디메틸포름아미드는 고분자물질 합성, 접착, 잉크 보조용제, 추출 등에 사용되는 유기용제이다. 장기적인 사용으로 인한 중독에 의해 간독성을 유발한다고 보고되어 있어 사용이나 폭로시 주의를 요하는 용제이다.¹⁴³⁻¹⁴⁶ N,N-디메틸포름아미드는 체에 흡수되어 다음과 같은 대사과정을 거쳐 소변으로 배설된다.

N,N-dimethylformamide → N-methyl-N-hydroxymethylformamide →
N-methylformamide → Formamide

N,N-디메틸포름아미드의 폭로 지표 물질로서 N-methylformamide(NMF), N-acetyl-S-(N-methylcarbamoyl)cysteine 등의 분석에 관해 보고된 바 있다.¹⁴⁷⁻¹⁵³ 이중 대사과정중 생성되는 NMF의 분석 방법을 소개하고자 한다.

(3) 기구 및 시약

용량플라스크 100ml 1개, 25ml 1개, 10ml 3개

자동피펫 2.5ml, 100 μ l

시험관 10ml 시료수 + 5개

N-methylformamide(d=1.011)³

탈이온수

메탄올

(4) 시료 채취 방법 및 전처리

가. 시료 채취

~ 작업이 끝난 직후 소변을 채취한다.

나. 표준용액 조제

① N-methylformamide 100 μ 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 탈이온수로 희석하여 10.1, 20.2, 30.3ppm의 표준용액을 만든다.

③ 시험관에 탈이온수(blank), 10.1, 20.2, 30.3, 40.4ppm의 표준용액 1ml를 각각 옮기고 나서 메탄올 1ml를 가하고 잘 섞어 검량선용 표준용액으로 한다.

다. 소변 전처리

① 소변을 3분간 잘 섞어준 후 1ml를 취하여 시험관에 옮긴다.

② 메탄올 1ml를 가하고 잘 섞은 후 3000rpm에서 5분 원심분리하여 침전을 제거한다.

③ 용액을 취하여 GC 검액으로 한다.

(5) 기기조건

- GC 조건

1) 컬럼 Carbowax-20 30m x 0.32mm ID x 0.3 μ 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

(6) 분석 결과 예시(부록 참조)

참 고 문 헌

1. List of MAK and BAT Values 1996, Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area, Report No.32, VCH Publishers(1996)
2. 1997 TLVs and BEIs, ACGIH(1997)
3. Merck Index, 11th edition, Merck &Co.,Inc.(1989)
4. NIOSH, NIOSH Manual of Analytical Methods, 4th ed., (1994)
5. I. Astrand *et al.*, Toluene exposure I. Concentration in alveolar air and blood at rest and during exercise, work-environ. health, 9, 19-130(1972)
6. F.Brugnone *et al.*, Alveolar air and blood toluene concentration in rotogravure workers, Int.Arch.Occup.Environ.Health, 38, 45-54(1976)
7. H.Veulemans and R.Masschelein, Experimental human exposure to toluene - II. toluene in venous blood during and after exposure, Int.Arch.Occup.Environ.Health, 42, 105-117(1978)
8. P.Ovrum *et al.*, Exposure to toluene in a photogravure printing plant, Scand.J. work environ. & health, 4, 237-245(1978)
9. I.Harabuchi *et al.*, Circadian variations of acute toxicity and blood and brain concentrations of inhaled toluene in rats, British J.Ind. Med., 50, 280-286(1993)
10. H.Konietzko *et al.*, Cumulative effects of daily toluene exposure, Int.Arch.Occup.Environ.Health, 46, 53-58(1980)
11. P. apostoli *et al.*, Biomonitoring of occupational toluene exposure, Int.Arch.Occup.Environ.Health, 50, 153-16(1982)
12. R.Lauwerys, Toluene, Commission of the European communities, Luxemburg(1983)
13. M.Wallen, Toxicokinetics of toluene in occupationally exposed volunteers, Scand. j. work environ. & Health, 12, 588-593(1986)
14. Y.H.Moon and J.H.Roh, Health impairment among toluene exposed workers, Korean J. of Preventive Medicine, 19(2), 177-183(1986)
15. F.Brugnone *et al.*, Toluene concentrations in the blood and alveolar air of workers during the workshift and the morning after, British J. of Ind.

- Medicine, 43, 56-61(1986)
16. S.Ghttori *et al.*, the urinary concentration of solvents as a biological indicator of exposure : Proposal for the biological equivalent exposure limit for nine solvents, *Am.Ind.Hyg.Assoc.j.*, 48(9), 786-790(1987)
 17. J.Baelum *et al.*, Toluene metabolism during exposure to varying concentrations combined with exercise, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 59, 287-294(1987)
 18. O.Inoue, *et al.*, Mutual metabolic suppression between benzene and toluene in man, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 60, 15-20(1988)
 19. G. Nise and P.φrbaek, Toluene in venous blood during and after work in rotogravure printing, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 60, 31-35(1988)
 20. P.O.Droz, Biological monitoring I : Sources of variability in human response to chemical exposure, *Applied Ind. Hygiene*, 4(1), F21-24(1989)
 21. V.Fiserova-Bergerova *et al.*, Biological monitoring II - Measurements in exhaled air, *Applied Ind. Hygiene*, 4(2), F10-13(1989)
 22. L.K.Lowry *et al.*, Biological monitoring III : Measurements in blood, *Applied Ind. Hygiene*, 4(3), F11-13(1989)
 23. J.Rosenberg *et al.*, Biological monitoring IV : Measurements in urine, *Applied Ind. Hygiene*, 4(4), F16-21(1989)
 24. V.Fiserova-Bergerova and J.T.Pierce, Biological monitoring V - Dermal absorption, *Applied Ind. Hygiene*, 4(8), F15-21(1989)
 25. G.Franco *et al.*, Conjugated serum bile acid concentrations in workers exposed to low doses of toluene and xylene, *British J. Ind. Medicine*, 46, 141-142(1989)
 26. G.Nise *et al.*, elimination of toluene from venous blood and adipose tissue after occupational exposure, *British J.Ind. Med.*, 46, 407-411(1989)
 27. J.N.McDougal *et al.*, Dermal absorption of organic chemical vapors in rats and humans, *Fundamental and applied Toxicol.*, 14, 299-308(1990)
 28. W.Daniell *et al.*, The contributions to solvent uptake by skin and inhalation exposure, *Am.Ind.Hyg.Assoc.J.*, 53(2), 124-129(1992)
 29. P.O.Droz and V.Fiserova-Bergerova, Biological monitoring VI - Pharmacokinetic models used in setting biological exposure indices, *Applied Ind. Hygiene*, 9(7), 574-581(1992)

30. G.Nise, Urinary excretion of o-cresol and hippuric acid after toluene exposure in rotogravure printing, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 63, 377-381(1992)
31. O.Inoue *et al.*, Effects of smoking and drinking on excretion of hippuric acid among toluene-exposed workers, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 64, 425-430(1993)
32. T.Kawai *et al.*, Toluene itself as the best urinary marker of toluene exposure, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 68, 289-297(1996)
33. J.Angerer, A.Kramer, Occupational chronic exposure to organic solvents XVI. ambient and biological monitoring of workers exposed to toluene, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 69, 91-96(1997)
34. W.Woiwode *et al.*, Metabolism of toluene in man: Gas chromatographic determination of o-, m- and p-cresol in urine, *Arch.Toxicol.*, 43, 93-98(1979)
35. W.Woiwode and K.Drysch, Experimental exposure to toluene : further consideration of cresol formation in man, *British J.Ind. Med.*, 38, 194-197(1981)
36. G.Bieniek and T.Wilczok, Thin layer chromatography of hippuric and m-methylhippuric acid in urine after mixed exposure to toluene and xylene, *British J.Ind. Med.*, 38, 304-306(1981)
37. M.Døssind *et al.*, Urinary hippuric acid and orthocresol excretion in man during experimental exposure to toluene, *British J.Ind. Med.*, 40, 470-473(1983)
38. K.Kono *et al.*, Urinary excretion of cresol as an indicator for occupational toluene exposure, *Ind. Health*, 23, 37-45(1985)
39. M.Ogata and T.Taguchi, Simultaneous determination of urinary creatinine and metabolites of aromatic organic solvents by automated high performance liquid chromatography, *Ind. Health*, 25, 225-228(1987)
40. M.Ogata and T.Taguchi, Quantitation of urinary metabolites of toluene, xylene, styrene, ethylbenzene, benzene and phenol by automated high performance liquid chromatography, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 59, 263-272(1987)
41. E.De Rosa *et al.*, Hippuric acid and ortho-cresol as biological indicators of

- occupational exposure to toluene, *American J. of Ind. Medicine*, 11, 529-537(1987)
42. T.P.Ng *et al.*, Urinary levels of proteins and metabolites in workers exposed to toluene - a cross-sectional study, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 62, 43-46(1990)
 43. D. de Carvalho *et al.*, A new derivatization procedure for the analysis of hippuric acid and m-methylhippuric acid by gas chromatography, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 63, 33-37(1991)
 44. T.Y.Han *et al.*, Atmospheric toluene concentration and urinary hippuric acid concentration according to the time of shift, *Kor.J.Occup.Med.*, 5(2), 205-215(1993)
 45. G.Truchon, R.Tardif and J.Brodeur, Gas Chromatographic Determination of Urinary o-Cresol for the Monitoring of Toluene Exposure, *J. Anal. Toxicol.*, 20, 309-312(1996)
 46. P.Pfaffli *et al.*, Urinary o-cresol in toluene exposure, *Scand. J. work environ. & Health*, 5, 286-289(1996)
 47. N.Cherry *et al.*, An investigation of the acute behavioral effects of styrene on factory workers, *British J.Ind. Med.*, 37, 234-240(1980)
 48. N.Cherry *et al.*, Acute behavioral effects of styrene exposure : a further analysis, *British J.Ind. Med.*, 38, 36-350(1981)
 49. W.V.Lorimer *et al.*, Health status of styrene-polyester polymerization workers, *Scand.J.Work Environ.Health*, 49, 325-339(1982)
 50. A.M.Seppalainen, Neurotoxicity of styrene in occupational and experimental exposure, *Scand.J.Work Environ.Health*, 4(Suppl 2), 181-183(1982)
 51. C.Edling and K. Ekberg, No acute behavioral effects of exposure to styrene : a safe level of exposure?, *British J.Ind. Med.*, 42, 301-304(1985)
 52. G.Arfini *et al.*, Impaired dopaminergic modulation of pituitary secretion in workers occupationally exposed to styrene : further evidence from PRL response to TRH stimulation, *J.Occup.Med.*, 29(10), 826-830(1987)
 53. R.Stigel *et al.*, Hematological findings among styrene exposed workers in the reinforced plastic industry, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 62, 11-18(1990)
 54. N.Cherry and D.Gautrin, Neurotoxic effects of styrene : further evidence,

- British J.Ind. Med., 47, 29-37(1990)
55. F.Gamberale *et al.*, The effect of styrene vapour on the reaction time of workers in the plastic boat industry, Adverse effects of environmental chemicals and psychotropic drugs, Vol 2, Elsevier, Amsterdam(1991)
 56. F.Gobba *et al.*, Acquired dyschromatopsia among styrene-exposed workers, J.Occup.Med., 33,761-765(1991)
 57. H.Checkoway *et al.*, Peripheral markers of neurochemical function among workers exposed to styrene, British J.Ind. Med., 49, 560-565(1992)
 58. P.Gotell *et al.*, Field studies on human styrene exposure, work-environm.-hlth, 9, 76-83(1972)
 59. M.Guillemin and D.Bauer, Human exposure to styrene : II. Quantitative and specific gaschromatographic analysis of urinary mandelic and phenylglyoxylic acids as an index of styrene exposure, Int.Arch.Occup.Environ.Health, 37, 57-64(1976)
 60. R.J.Karbowski and W.H.Braun, Quantitative determination of styrene in biological samples and expired air by gas chromatography-mass spectrometry(selected ion monitoring), J.Chromatogr., 160, 141-145(1978)
 61. M.Ikeda and T.Hirayama, Possible metabolic interaction of styrene with organic solvents, Scand.J. work environ. & Health, 4(suppl.2), 41-46(1978)
 62. S.M.Brooks *et al.*, The effects of protective equipment on styrene exposure in workers in the reinforced plastic industry, Arch.Environ.Health, 35(5), 287-294(1980)
 63. M.Ikeda *et al.*, Styrene exposure and biological monitoring in FRP boat production plants, Int.Arch.Occup.Environ.Health, 49, 325-339(1982)
 64. P.O.Droz and M.P.Guillemin, Human styrene exposure : V. development of a model for biological monitoring, Int.Arch.Occup.Environ.Health, 53, 19-36(1983)
 65. A.Lof *et al.*, Occurrence of styrene-7,8-oxide and styrene glycol in mouse after the administration of styrene, Scand.J. work environ. & Health, 10, 179-187(1984)
 66. E.Wigaeus *et al.*, Uptake, distribution, metabolism, and elimination of styrene in man. A comparison between single exposure and co-exposure with acetone, British J.Ind. Med., 41, 539-546(1984)

67. M.Berode *et al.*, Effect of alcohol on the kinetics of styrene and its metabolites in volunteers and in workers, *Appl.Ind.Hyg.*, 1(1), 25-28(1986)
68. A.Lof *et al.*, Kinetics of styrene in workers from a plastics industry after controlled exposure : a comparison with subjects not previously exposed, *British J.Ind. Med.*, 43, 537-541(1986)
69. M.P.Guillemain and M.Berode, Biological monitoring of styrene : a review, *Am.Ind.Hyg.Assoc.J.*, 49(10), 497-505(1988)
70. H.Wieczorek and J.K.Piotrowski, Kinetic interpretation of the exposure test for styrene, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 61, 107-113(1988)
71. L.Perbellini *et al.*, Biological exposure index of styrene suggested by a physiologic-mathematical model, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 60, 187-193(1988)
72. F.Brugnone *et al.*, Breath and blood levels of benzene, toluene, cumene and styrene in non-occupational exposure, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 61, 303-311(1989)
73. D.Marhuenda *et al.*, Biological monitoring of styrene exposure and possible interference of acetone co-exposure, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 69, 455-460(1997)
74. A.Slob, A new method for determination of mandelic acid excretion at low level styrene exposure, *British J. Ind. Med.*, 30, 390-393(1973)
75. D.Bauer and M.Guillemain, Human exposure to styrene : I. The Gaschromatographic determination of urinary phenylglyoxylic acid using diazomethane derivatization, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 37, 47-55(1976)
76. H.Matsui *et al.*, Quantitative determination of hippuric and m-methylhippuric acids in urine by high-speed liquid chromatography, *British J.Ind. Med.*, 34, 310-313(1977)
77. J.Sollenberg and A.Baldesten, Isotachophoretic analysis of mandelic acid, phenylglyoxylic acid, hippuric acid and methylhippuric acid in urine after occupational exposure to styrene, toluene and/or xylene, *J.Chromatogr.*, 132, 469-476(1977)
78. G.Poggi *et al.*, High performance Liquid chromatography for the quantitative determination of the urinary metabolites of toluene, xylene, and styrene, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 50, 25-31(1982)

79. G.Bieniek *et al.*, TL separation of hippuric, mandelic, and phenylglyoxylic acids from urine after mixed exposure to toluene and styrene, *British J.Ind. Med.*, 39, 187-190(1982)
80. J.Sollenberg *et al.*, Biological exposure limits estimated from relations between occupational styrene exposure during a workweek and excretion of mandelic and phenylglyoxylic acids in urine, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 60, 365-370(1988)
81. L.Drummond *et al.*, The metabolism of ethylbenzene and styrene to mandelic acid : stereochemical considerations, *Xenobiotica*, 19(2), 199-207(1989)
82. G.Truchon *et al.*, Simultaneous determination of urinary mandelic, phenylglyoxylic, and mercapturic acids of styrene by high-performance liquid chromatography, *J.Anal.Toxicol.*, 14, 227-230(1990)
83. S.Cerny *et al.*, Effect of ethanol on the urinary excretion of mandelic and phenylglyoxylic acids after human exposure to styrene, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 62, 243-247(1990)
84. O.Inoue *et al.*, Simultaneous determination of Hippuric acid, o-, m-, and p-methylhippuric acid, phenylglyoxylic acid, and mandelic acid by HPLC, *Bull.Environ.contam.toxicol.*, 47, 204-210(1991)
85. R.L.Dills *et al.*, Capillary gas chromatographic method for mandelic and phenylglyoxylic acids in urine, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 62, 603-606(1991)
86. A.J.Murer *et al.*, Determination of the urinary metabolites of styrene : estimation of the method evaluation function and evaluation of reference values in Danish subjects, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 65, 313-318(1994)
87. J.S.Yang, Quantitative determination of styrene in blood and mandelic acid in urine of the occupationally styrene-exposed workers, *Arch.Pharm.Res.*, 17(2), 76-79(1994)
88. C.N.Ong, *et al.*, Biological monitoring of exposure to low concentrations of styrene, *Am.J.Ind. Med.*, 25, 719-730(1994)
89. C.Y.Shi *et al.*, Kinetics of styrene urinary metabolites : a study in a low-level occupational exposure setting in Singapore, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 65, 319-323(1994)

90. K.Wrangskog *et al.*, Application of a single-compartment model for estimation of styrene uptake from measurements of urinary excretion of mandelic acid and phenylglyoxylic acids after occupational exposure, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 68, 337-341(1996)
91. O.Inoue *et al.*, Excretion of methylhippuric acids in urine of workers exposed to a xylene mixture : comparison among three xylene isomers and toluene, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 64, 533-539(1993)
92. T.Kawai *et al.*, Urinary methylhippuric acid isomer levels after occupational exposure to a xylene mixture, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 63, 69-75(1991)
93. R.Lauwerys, Benzene, Commission of the European communities, Luxemburg(1983)
94. S.N.Yin *et al.*, Occupational exposure to benzene in China, *British J.Ind. Med.*, 44, 192-195(1987)
95. L.Drummond *et al.*, Biological monitoring of workers exposed to benzene in the coke oven industry, *British J.Ind. Med.*, 45, 256-261(1988)
96. H.Hajimiragha *et al.*, Levels of benzene and other volatile aromatic compounds in the blood of non-smokers and smokers, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 61, 513-58(1989)
97. F.Brugnone *et al.*, Reference values for blood benzene in the occupationally unexposed general population, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 64, 179-184(1992)
98. K.H.Shaller, Biological monitoring of occupational exposure to benzene, *Advances in occupational medicine and rehabilitation*, 1(2), 135-143(1995)
99. R.L.Moolenaar *et al.*, Blood benzene concentrations in workers exposed to oxygenated fuel in Fairbanks,Alaska, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 69, 139-143(1997)
100. P.Hotz *et al.*, Biological monitoring of vehicle mechanics and other workers exposed to low concentrations of benzene, *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 70, 29-40(1997)
101. O.Inoue *et al.*, Determination of catechol and quinol in the urine of workers exposed to benzene, *British J.Ind. Med.*, 45, 48-492(1988)
102. O.Inoue *et al.*, Excretion of 1,2,4-benzenetriol in the urine of workers

- exposed to benzene, British J.Ind. Med., 46, 559-565(1989)
103. N.J.van Stirrer *et al.*, Application of the urinary S-phenylmercapturic acid test as a biomarker for low levels of exposure to benzene in industry, British J.Ind. Med., 50, 460-469(1993)
 104. S.F.Dressman *et al.*, Supercritical fluid chromatography with electrochemical detection of phenols and polyaromatic hydrocarbons, Anal.Chem., 68, 3121-3127(1996)
 105. P.ducous *et al.*, Improvement in HPLC analysis of urinary trans,trans-muconic acid, a promising substitute for phenol in the assessment of benzene exposure, Int.Arch.Occup.Environ.Health, 62, 529-534(1990)
 106. V.M.Weaver *et al.*, Benzene exposure, Assessed by urinary trans,trans-muconic acid, in urban children with elevated blood lead levels, Environmental Health Perspectives, 104(3), 318-323(1996)
 107. T.Ruppert *et al.*, trans,trans-Muconic acid as a biomarker of non-occupational environmental exposure to benzene, Int.Arch.Occup.Environ.Health, 69, 247-251(1997)
 108. N.W.Paik *et al.*, Trichloroethylene poisoning in degreasing process of an electric appliances manufacturing, Kor.J.Occup.Health, 9(2), 4-8(1970)
 109. A.C.Monster, R.L.Zielhufs, Chlorinated hydrocarbon solvents, Commission of the European communities, Luxemburg(1983)
 110. C.Y.Kim *et al.*, Trichloroethylene exposure of workers employed in degreasing process of metal manufacturing, Kor.J.Occup.Health, 28(4), 126-137(1989)
 111. Y.H.Moon *et al.*, Health hazard of workers potentially exposed to trichloroethylene in the Inchon area, The Kor.J.Occup.Med., 4(1), 14-19(1992)
 112. R.Kish *et al.*, Acute effects of trichloroethylene on blood concentrations and performance decrements in rats and their relevance to humans, British J.Ind.Med., 50, 470-480(1993)
 113. K.H.Let *al.* and N.W.Paik, a study on worker exposure to trichloroethylene and emission factor for degreasers in plating plants, Kor.Ind.Hyg.Assoc.J., 3(1), 3-13(1993)

114. H.Arito *et al.*, Electroencephalographic and autonomic responses to trichloroethylene inhalation in freely moving rats, Arch.Toxicol., 67, 193-199(1993)
115. K.J.Lee *et al.*, Effects of ethanol and phenobarbital on metabolism of trichloroethylene in rats, The Kor.J.Occup.Med., 5(1), 76-86(1993)
116. H.Arito *et al.*, effects of subchronic inhalation exposure to low level trichloroethylene on heart rate and wakefulness-sleep in freely moving rats, Jpn.J.Ind/Health, 36, 1-8(1994)
117. S.Tanaka and M.Ikeda, A method for determination of trichloroethanol and trichloroacetic acid in urine, British J.Ind.Med., 25, 214-219(1968)
118. M.Ogata *et al.*, A simple method for the quantitative analysis of urinary trichloroethanol and trichloroacetic acid as an index of trichloroethylene exposure, British J.Ind.Med., 27, 378-381(1970)
119. M.Ogata *et al.*, A simple method for the quantitative analysis of urinary trichloroethanol and trichloroacetic acid as an index of trichloroethylene exposure, British J.Ind.Med., 27, 378-381(1970)
120. M.Ikeda and H.Ohtsuji, A comparative study of the excretion of Fujiwara reaction-positive substances in urine of humans and rodents given trichloro- or tetrachloro-derivatives of ethane and ethylene, British J.Ind.Med., 29, 99-104(1972)
121. H.Nomiyama *et al.*, Gas-liquid chromatographic determination of trichloroethylene metabolites in urine, 39, 506-510(1978)
122. M.Ogata *et al.*, A new microdetermination method used in an analysis of the excretion of trichloro-compounds in the urine of workers exposed to trichloroethylene vapour, Ind. Health, 25, 103-112(1987)
123. H.A.Kim and K.M.Lee, Urinary excretion of total trichloro-compounds and air trichloroethylene concentration in trichloroethylene related workers, Kor.J.Occup.Health, 28(1), 9-13(1989)
124. O.Inoue *et al.*, Relationship between vapor exposure and urinary metabolite excretion among workers exposed to trichloroethylene, Am.J.Industrial Med., 15, 103-110(1989)
125. H.Jeon and H.Kim, The relationship between airborne trichloroethylene concentrations and total trichloro-compounds and trichloroacetic acid in

- urine, Kor.Ind.Hyg.Assoc.J.,4(1), 7-16(1994)
126. J.S.Yang *et al.*, Simultaneous determination of trichloroethanol and trichloroacetic acid in urine by headspace gas chromatography, Korea industrial safety corporation, Seong-II Inc., Seoul(1994)
 127. A.S.Bangalore *et al.*, Automated detection of trichloroethylene by Fourier transform infrared remote sensing measurements, Anal.Chem, 69, 118-129(1997)
 128. D.D.Breimer *et al.*, Gas chromatographic determination of chloral hydrate, trichloroethanol and trichloroacetic acid in blood and in urine employing head-space analysis, J.Chromatogr., 88, 55-63(1974)
 129. J.M.Cristensen *et al.*, Automatic headspace gas chromatographic method for the simultaneous determination of trichloroethylene and metabolites in blood and urine, J.Chromatogr., 442, 317-323(1988)
 130. A.Ohara *et al.*, Determination of trichloroacetic acid and trichloroethanol by head-space gas chromatography(HS GC), Jpn.J.Ind.Health, 83, 94-103(1991)
 131. T.Kawai *et al.*, Methanol in urine as a biological indicator of occupational exposure to methanol vapor, Int.Arch.Ind.Occup.Environ.Health, 63, 311-318(1991)
 132. T.Kawai *et al.*, Biological monitoring of occupational exposure to isopropyl alcohol vapor by urinalysis for acetone, Int.Arch.Ind.Occup.Environ.Health, 62, 409-413(1990)
 133. A.Fujino *et al.*, Biological monitoring of workers exposed to acetone in acetone fibre plants, British J.Ind.Med., 49, 654-657(1992)
 134. T.Kawai *et al.*, Urinary excretion of unmetabolized acetone as an indicator of occupational exposure to acetone, Int.Arch.Ind.Occup.Environ.Health, 62, 165-169(1990)
 135. J.Liira *et al.*, Kinetics of methyl ethyl ketone in man : absorption, distribution and elimination in inhalation exposure, Int.Arch.Ind.Occup.Environ.Health, 60, 195-200(1988)
 136. C.N.Ong *et al.*, Biological monitoring of occupational exposure to methyl ethyl ketone, Int.Arch.Ind.Occup.Environ.Health, 63, 319-324(1991)
 137. L.Perbellin *et al.*, Urinary excretion of the metabolites of n-hexane and

- its isomers during occupational exposure, British J.Ind.Med., 38, 20-26(1981)
138. A.Mutti *et al.*, n-Hexane metabolism in occupationally exposed workers, British J.Ind.Med., 41, 533-538(1984)
 139. T.kawai *et al.*, The method of choice for the determination of 2,5-hexanedione as an indicator of occupational exposure to n-hexane, Int.Arch.Occup.Environ.Health, 62, 403-408(1990)
 140. M.Ogata *et al.*, Urinary 2,5-hexanedione assay involving its conversion to 2,5-dimethylpyrrole, Int.Arch.Occup.Environ.Health, 62, 561-568(1991)
 141. I.Saito *et al.*, Determination of urinary 2,5-hexanedione concentration by an improved analytical method as an index of exposure to n-hexane, British J.Ind.Med., 48, 568-574(1991)
 142. A.Cardona *et al.*, Behaviour of urinary 25-hexanedione in occupational co-exposure to n-hexane and acetone, Int.Arch.Occup.Environ.Health, 68, 88-93(1996)
 143. R.R.Lawerys *et al.*, Biological surveillance of workers exposed to dimethylformamide and the influence of skin protection on its percutaneous absorption, Int.Arch.Occup.Environ.Health, 45, 189-203(1980)
 144. H.K.Chung *et al.*, Evaluation of biological metabolites among the workers exposed to dimethylformamide, The Kor.J.Occup.Med., 4(2), 144-150(1992)
 145. S.X.Cai *et al.*, Occupational dimethylformamide exposure-3. Health effects of dimethylformamide after occupational exposure at low concentrations, Int.Arch.Occup.Environ.Health, 63, 461-468(1992)
 146. J.Mraz and H.Nohova, Percutaneous absorption of N,N-dimethylformamide in humans, Int.Arch.Occup.Environ.Health, 64, 79-83(1992)
 147. J.R.Barnes and N.W.Henry, The determination of N-methylformamide and N-methylacetamide in urine, Am.Ind.Hyg.Assoc.J., 84-87(1974)
 148. J.Mraz, Identification of N-acetyl-S-(N-methylcarbamoyl)cysteine, a human metabolite of N,N-dimethylformamide and N-methylformamide, J.Chromatogr, 414, 399-44(1987)
 149. J.Mraz, Gas chromatographic method for the determination of N-acetyl-S-(N-methylcarbamoyl)cysteine, a metabolite of N,N-dimethylformamide and N-methylformamide, in human urine,

- J.Chromatogr., 431, 361-368(1988)
150. T.Yasugi *et al.*, Occupational dimethylformamide exposure-1. Diffusive sampling of dimethylformamide vapor for determination of time-weighted average concentration in air, Int.Arch.Occup.Environ.Health, 63, 449-453(1992)
 151. T.Kawai *et al.*, Occupational dimethylformamide exposure-2. Monomethylformamide excretion in urine after occupational dimethylformamide exposure, Int.Arch.Occup.Environ.Health, 63, 455-460(1992)
 152. J.Mraz and H.Nohova, Absorption, Metabolism and elimination of N,N-dimethylformamide in humans, Int.Arch.Occup.Environ.Health, 64, 85-92(1992)
 153. T.Kawai *et al.*, Separate determination by gas-chromatography of dimethylformamide, dimethylacetamide, monomethylformamide and monomethylacetamide in urine for biological monitoring, J.Occup.Health, 39, 113-118(1997)

여 백

부 록

전혈중납.....	[PbB-1~5]
혈장중 δ -aminolevulinic acid(δ -ALA).....	[ALA-1~2]
혈중P-5-N.....	[P5N-1~2]
소변중납.....	[PbU-1]
전혈중카드뮴.....	[CdB-1~5]
소변중카드뮴.....	[CdU-1~3]
전혈, 혈청 및 소변중 크롬.....	[Cr-1~7]
전혈중망간.....	[MnB-1~5]
소변중망간.....	[MnU-1~5]
소변중수은.....	[HgU-1~5]
전혈중수은.....	[HgB-1~2]
혈중톨루엔.....	[Toluene-1~2]
혈중스티렌.....	[Styrene-1]
혈중크실렌.....	[Xylene-1]
요중만델린산,마노산,메틸마노산,페닐글리옥실산.....	[HA1-1~2]
요중마노산	[HA2-1]
o-크레졸, m-크레졸, p-크레졸.....	[Cresol-1~2]
요중 t,t-muconic acid.....	[t,t-MA-1]
요중페놀	[Phenol-1~2]
혈중트리클로로에탄올.....	[TCEtOH-1~2]
요중삼염화에탄올,삼염화초산.....	[TCE-1~2]
요중메틸알코올, 에틸알코올, 이소프로필알코올, 아세톤, 메틸에틸케톤, 메틸이소부틸케톤	[Alcohol,Ketone-1~2]
요중2,5-hexanedione.....	[2,5-HD-1~2]
요중N-methylformamide(NMF).....	[NMF-1~2]

전혈중납[GF-AAS법]

1. 기구 & 시약

용량 플라스크: 1000 ml 1개, 100 ml 1개, 10 ml 4개

자동 피펫: 2000-5000 μl , 100-1000 μl , 100 μl

혈액 혼합기

분주기(0.4 - 2.0 ml)

희석용 폴리스티렌 튜브 & 튜브꽂이

AAS 자동시료주입기용 폴리프로필렌 컵

Varian SpectrAA-400(Deuterium lamp correction) AAS with

Varian GTA-96 graphite tube atomizer

Pyrolytic coated partitioned tube

탈이온수

Triton X-100

$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$

Pb 표준용액(1000 ppm = 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ = 100000 $\mu\text{g}/\text{dl}$)

HNO_3

2. AAS 자동시료주입기 세척용액 조제

[	HNO_3	0.1 ml
[	탈이온수	500 ml 되도록.

3. 희석액 조제

희석액 1000 ml 중에

[	Triton X-100	2 ml
[	$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	2 g
[	탈이온수	표선 1000 ml가 되도록.

* Triton X-100은 계면활성제로서 거품을 일으키므로 흔들어 녹이지 말고, 초음파세척기(sonicator)나 자석 교반기(magnetic stirrer)를 사용하여 용해시키거나 거품방지제(antifoaming agent)를 첨가한다.

* 1.8 ml로 맞춰진 분주기에 담아두고 사용하면 편리하다.

4. Pb 표준용액 조제

① Pb 1000 ppm 원액 1 ml를 탈이온수로 100 ml로 희석하여 Pb 1000 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 표준용액을 만든다.

② Pb 1000 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 표준용액을 탈이온수로 희석하여 Pb 10.00, 30.00, 50.00, 70.00 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 표준용액을 만든다.

Pb 표준용액 번호	Pb 표준용액 농도		조제법	
	ppm	$\mu\text{g}/\text{dl}$	Pb 1000 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 표준용액	탈이온수
1	0.1	10.00	0.1 ml	표선 10 ml
2	0.3	30.00	0.3 ml	표선 10 ml
3	0.5	50.00	0.5 ml	표선 10 ml
4	0.7	70.00	0.7 ml	표선 10 ml

5. 전혈 전처리

* 전혈은 혼합기로 3분정도 잘 섞어준 후 취한다.

(1) 검량선작성용 전혈 처리 [표준물 첨가법]

시료번호	희석액	전혈	Pb 표준용액		전혈 중 Pb 농도
	(ml)	(ml)	(용액 번호)	(ml)	($\mu\text{g}/\text{dl}$)
addition 0	1.8	0.1	탈이온수	0.1	X + 0.00
addition 1	1.8	0.1	1	0.1	X + 10.00
addition 2	1.8	0.1	2	0.1	X + 30.00
addition 3	1.8	0.1	3	0.1	X + 50.00
addition 4	1.8	0.1	4	0.1	X + 70.00

(2) 시료전혈 처리

addition 0와 같다(희석액 1.8 ml + 탈이온수 0.1 ml + 시료전혈 0.1 ml).

6. 기기조건

6.1. Furnace parameters

Step No.	Temp(℃)	Time(sec)	Gas flow(ℓ /min)
1	85	5	3
2	95	40	3
3	120	20	3
4	250	8	3
5	450	7	3
6	600	10	3
7	600	1	0
8	2200	1	0 read
9	2200	2	0 read
10	2300	2	3
11	2700	3	3

6.2. Method

Instrument mode: Absorbance

Calibration mode: Standard addition

Measurement mode: Peak height

6.3. Instrument parameters

Lamp current: 5 mA

Slit width: 0.5 nm

Slit height: Normal

Wavelength: 283.3 nm

Sample introduction: Sampler premixed

Background correction: ON

6.4. Sampler

Sample volume: 15 $\mu\ell$

0.301

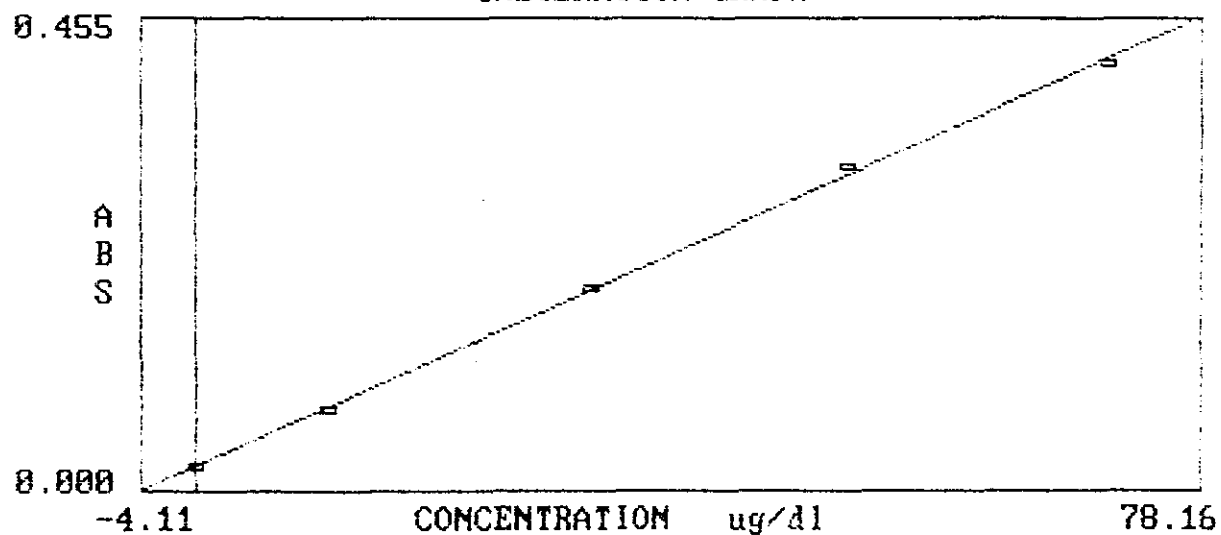
PROGRAM 88
SAMPLE 32
ABSORBANCE
PEAK HEIGHT

Pb blood
REPLICATE 1
STANDARD ADDN'S SAMPLER PREMIX
3.0 (sec) BC ON

FURNACE

PRINTING

CALIBRATION GRAPH



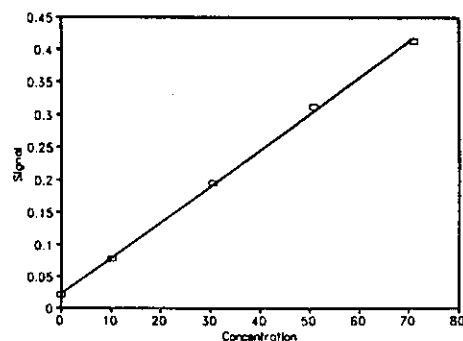
Calculation of LOD for Pb in blood

LINEAR CORRELATION, $y = bx + a$ (Conc. = x, Response = y)

$$y = 0.005573 * x + 0.022585, \quad r = 0.999578$$

$$(x = 179.433 * y + -4.05256)$$

Avg(x) =	32.48
Avg(y) =	0.2036
n =	5
n-2 =	3
S _{y/x} =	0.005436
S _b =	9.35E-05
S _a =	0.00389
LOD =	2.926229 (3SD)



혈장중 δ -aminolevulinic acid(δ -ALA)[HPLC-형광검출법]

* 기구 및 시약

δ -Aminolevulinic acid(δ -ALA)	용량플라스크 100ml 6개, 10ml 6개
20% TCA용액	피펫 10-100 μ l, 200-1000 μ l, 500-2500 μ l
메탄올(HPLC급)	메스플라스크 100ml
2M Sodium acetate	원심분리용 폴리프로필렌 용기 1ml
2M 초산	마개달린 시험관 10ml
	갈색병 500ml
0.2M 초산완충용액(2M sodium acetate 1.25ml + 2M 초산 8.75ml $\rightarrow$ 100ml)	
시약 A (아세틸아세톤 : 에탄올 : 탈이온수 = 15:10:54, v/v/v)	
시약 B (8.5% 포름알데히드 수용액, w/v)	

* 표준용액 조제

- ① δ -Aminolevulinic acid(δ -ALA) 10mg/100ml 탈이온수(100ppm)
- ② 100ppm 20ml $\rightarrow$ 100ml(20ppm) 0 ml $\rightarrow$ 10ml : Blank
2.5ml $\rightarrow$ 10ml : 5ppm
5.0ml $\rightarrow$ 10ml : 10ppm
7.5ml $\rightarrow$ 10ml : 15ppm

* 표준용액 및 시료 전처리

혈장 100 μ l
↓ 20% TCA 50 μ l
↓ 15,000rpm, 10분 원심분리
시료 혹은 표준용액 10 μ l
↓ 탈이온수 240 μ l
↓ 0.2M 초산완충용액 250 μ l
↓ 시약 A 1.25ml
↓ 시약 B 250 μ l
↓ 100℃, 15분
↓ 식힘
HPLC 측정

* HPLC 조건

- 1) 컬럼 : C18(5 μ m), 15cm x 2.1mm
- 2) 이동상
탈이온수 : 메탄올 : 초산 = 50:50:0.1(v/v/v)
- 3) 유속 : 0.3ml/min
- 4) 검출기 : 형광검출기(373nm/463nm ex/em)

၁၃၁၂

Number of people in household	Number of people in household who are 65 years of age or older
1	1
2	2
3	3
4	4
5	5
6	4
7	5
8	6
9	7
10	8

혈중P-5-N[HPLC-UV검출법]

* 기구 및 시약

Uridine	용량플라스크 100ml 5개, 25ml 1개, 10ml 5개
메탄올(HPLC급)	메스실린더 100ml
KH ₂ PO ₄	피펫 200-1000, 500-2500μl, 10ml
1-Decanesulphonic acid	시험관 10ml
탈이온수	
2% Concanavalin A(ConA) 수용액	
0.1M MgCl ₂ 수용액	
UMP 시약(148mg UMP-2Na in 100ml tris-HCl완충용액, 4℃ 보관)	
50mM Tris-HCl 완충용액	
(50ml 0.1M Tris-HCl(12.114g/l) + 40.3ml 0.1M HCl -> 100ml, pH7.5)	

* 표준용액 조제

- ① Uridine 24.42mg/25ml 탈이온수(4mM)
- ② 4mM
0 ml -> 10ml : Blank
2 ml -> 10ml : 0.8mM
4 ml -> 10ml : 1.6mM
6 ml -> 10ml : 2.4mM
8 ml -> 10ml : 3.2mM

* 시료 전처리

- 시료는 blood mixer로 3분정도 잘 섞어준 후 취한다.

표준용액, 시료 200μl

↓ 탈이온수 400μl, ConA 수용액 200μl

↓ 0.1M MgCl₂ 수용액 200μl, UMP 시약 1000μl

↓ 37℃, 1시간

↓ 끓는물, 2분

↓ 식힌 후 3000rpm, 5분 원심분리

수층을 HPLC에 주입

* HPLC 조건

1) 컬럼 : C18(5μm), 15cm x 2.1mm

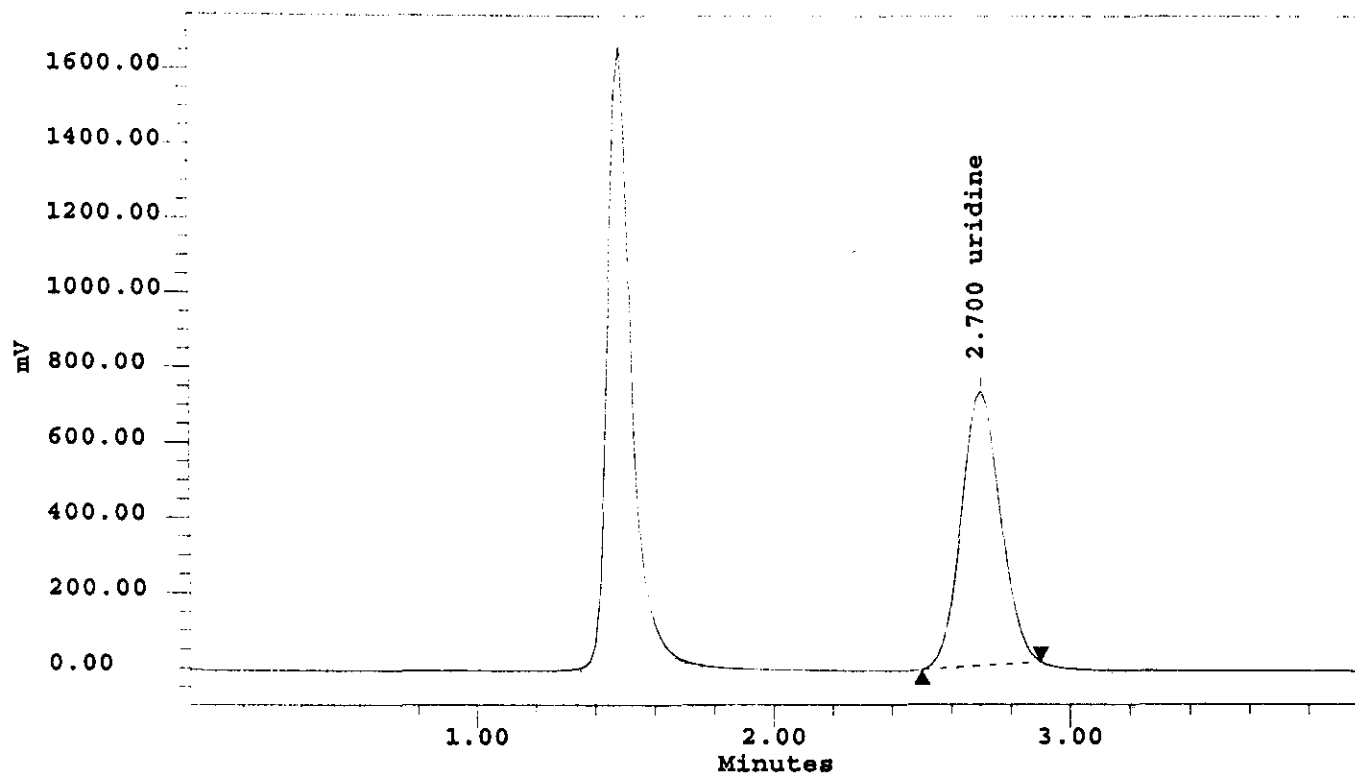
2) 이동상

0.2mM 1-Decanesulphonic acid in 5% MeOH/5mM KH₂PO₄

3) 유속 : 0.3ml/min

4) 검출기 : UV 260nm

P5N-2



소변중납[Flame-AAS법]

1. 시료 전처리

1) Subramanian법

가. 시료 5ml를 파이렉스 유리 용량플라스크에 취하고 10% NH_4NO_3 용액 250 μl 와 10% HNO_3 500 μl 를 가한 후 탈이온수로 표선 5 ml를 맞추고 마개를 하여 20초 동안 와류혼합기(vortex mixer)로 세게 흔든다.

나. 이 용액을 10 μl 취하여 GFAAS에 도입한다.

2) Arai법

가. 시료 5 ml를 새지않는 테플론용기에 취하고 농질산 2.5 ml를 가한후 마개를 하여 130 $^{\circ}\text{C}$ hot-air-circulating desiccator에서 90분간 반응시킨다.

나. 용기를 꺼내어 4 $^{\circ}\text{C}$ 로 유지되는 냉방에서 식힌다. 내용물을 탈이온수로 씻어 파이렉스마개가 달린 파이렉스 튜브에 옮기고 탈이온수 적당량을 가해 10 ml로 한다.

다. 비불꽃법 AAS에서 분석한다.

2. 표준용액 조제

- Urine Control (Fisher # 2934-80, Level 1)에 Pb를 첨가하여 검량선을 작성한다.

3. 기기조건

=====

Lamp current 7.0 mA, Wavelength 283.3 nm, Slit 0.7 nm, Nitrogen flow 300 ml/min (no gas flow during the atomization cycle), Integration time 5.0 sec

	Temp. ($^{\circ}\text{C}$)	Time (ramp/hold)
Drying step	120	30/30
Ashing step	500	10/40
Atomization step	2300	1/3
Cleaning step	2700	1/3

=====

전혈중카드뮴[GF-AAS]

1. 기구 & 시약

용량 플라스크: 1000 ml 1개, 100 ml 2개, 10 ml 4개

자동 피펫: 2000-5000 μl , 100-1000 μl , 100 μl

혈액 혼합기

분주기(0.4 - 2.0 ml)

회석용 폴리스티렌 튜브 & 튜브꽂이

AAS 자동시료주입기용 폴리프로필렌 컵

Varian SpectrAA-400(Deuterium lamp correction) AAS with

Varian GTA-96 graphite tube atomizer

Pyrolytic coated partitioned tube

탈이온수

Triton X-100

$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$

Cd 표준용액(1000 ppm = 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ = 100000 $\mu\text{g}/\text{dl}$)

HNO_3

2. AAS 자동시료주입기 세척용액 조제

[	HNO_3	0.1 ml
]	탈이온수	500 ml 되도록.

3. 회석액 조제

회석액 1000 ml 중에

[	Triton X-100	2 ml
]	$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	2 g
]	탈이온수	표선 1000 ml가 되도록.

* Triton X-100은 계면활성제로서 거품을 일으키므로 흔들어 녹이지 말고, 초음파세척기(sonicator)나 자석 교반기(magnetic stirrer)를 사용하여 용해시키거나 거품방지제(antifoaming agent)를 첨가한다.

* 1.8 ml로 맞춰진 분주기에 담아두고 사용하면 편리하다.

4. Cd 표준용액 조제

① Cd 1000 ppm 원액 1 ml를 탈이온수로 100 ml로 희석하여 Cd 1000 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 표준용액을 만든다.

② Cd 1000 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 표준용액 1 ml를 탈이온수로 100 ml로 희석하여 Cd 10 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 표준용액을 만든다.

③ Cd 10 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 표준용액을 탈이온수로 희석하여 Cd 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 표준용액을 만든다.

Cd 표준용액 번호	Cd 표준용액 농도		조제법	
	$\mu\text{g}/\text{dl}$	Cd 10 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 표준용액	탈이온수	
1	0.20	0.2 ml	표선 10 ml	
2	0.40	0.4 ml	표선 10 ml	
3	0.60	0.6 ml	표선 10 ml	
4	0.80	0.8 ml	표선 10 ml	

5. 전혈 전처리

* 전혈은 혼합기로 3분정도 잘 섞어준 후 취한다.

(1) 검량선작성용 전혈 처리 [표준물 첨가법]

시료번호	희석액	전혈	Cd 표준용액		전혈 중 Cd 농도
	(ml)	(ml)	(용액 번호)	(ml)	($\mu\text{g}/\text{dl}$)
addition 0	1.8	0.1	탈이온수	0.1	X + 0.00
addition 1	1.8	0.1	1	0.1	X + 0.20
addition 2	1.8	0.1	2	0.1	X + 0.40
addition 3	1.8	0.1	3	0.1	X + 0.60
addition 4	1.8	0.1	4	0.1	X + 0.80

(2) 시료전혈 처리

addition 0와 같다(회석액 1.8 ml + 탈이온수 0.1 ml + 시료전혈 0.1 ml).

6. 기기조건

6.1. Furnace parameters

Step No.	Temp(℃)	Time(sec)	Gas flow(ℓ /min)	
1	85	5	3	
2	110	20	3	
3	130	10	3	
4	600	10	3	
5	600	30	3	
6	600	1	0	
7	2000	0.7	0	
8	2000	3	0	read
9	2200	2	3	
10	2500	3	3	

6.2. Method

Instrument mode: Absorbance

Calibration mode: Standard addition

Measurement mode: Peak height

6.3. Instrument parameters

Lamp current: 4 mA

Slit width: 0.5 nm

Slit height: Normal

Wavelength: 228.8 nm

Sample introduction: Sampler premixed

Background correction: ON

6.4. Sampler

Sample volume: 15 μ l

0.051

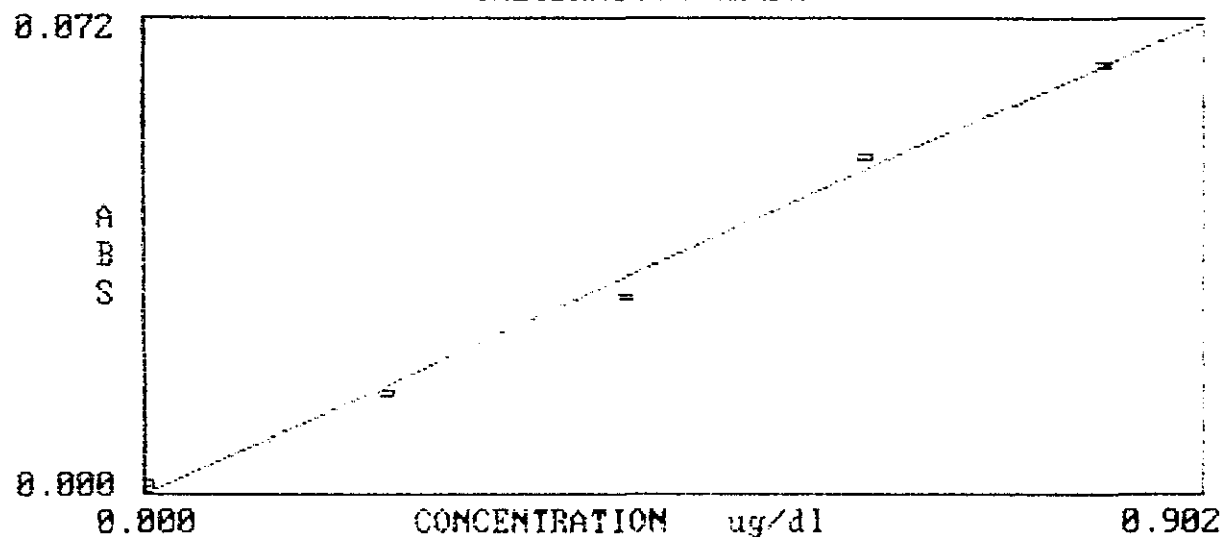
PROGRAM 85
SAMPLE 20
ABSORBANCE
PEAK HEIGHT

Cd blood
REPLICATE 1
STANDARD ADDN'S SAMPLER PREMIX
3.0 (sec) BC ON

FURN.

PRINTING

CALIBRATION GRAPH



전혈, 혈청 및 소변중 크롬[Zeeman GF-AAS법]

1. 기구 & 시약

용량 플라스크: 1000 ml 1개, 10 ml 6개

자동 피펫: 1000 μl , 100-1000 μl , 100 μl

혈액 혼합기

분주기(0.4 - 2.0 ml)

회석용 폴리스타렌 튜브 & 튜브꽂이

AAS 자동시료주입기용 폴리프로필렌 컵

Varian SpectrAA-400 Plus Zeeman AAS with

Varian Zeeman graphite tube atomizer

Pyrolytic coated partitioned tube

탈이온수

Triton X-100

Cr 표준용액(1000 ppm = 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ = 100000 $\mu\text{g}/\text{dl}$ = 1000000 $\mu\text{g}/\text{l}$)

HNO₃

2. AAS 자동시료주입기 세척용액 조제

[HNO₃ 0.1 ml
탈이온수 500 ml 되도록.

3. 회석액 조제

회석액 1000 ml 중에

[Triton X-100 1 ml
탈이온수 표선 1000 ml가 되도록.

* Triton X-100은 계면활성제로서 거품을 일으키므로 흔들어 녹이지 말고, 초음파세척기(sonicator)나 자석 교반기(magnetic stirrer)를 사용하여 용해시키거나 거품방지제(antifoaming agent)를 첨가한다.

* 0.8 ml로 맞춰진 분주기에 담아두고 사용하면 편리하다.

4. Cr 표준용액 조제

① Cr 1000 ppm 원액 0.1 ml를 탈이온수로 10 ml로 회석하여 Cr 1000 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (=

10000 $\mu\text{g}/\ell$) 표준용액을 만든다.

② Cr 1000 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (= 10000 $\mu\text{g}/\ell$) 표준용액 0.1 ml를 탈이온수로 10 ml로 희석하여 Cr 10 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (= 100 $\mu\text{g}/\ell$) 표준용액을 만든다.

③ Cr 10 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (= 100 $\mu\text{g}/\ell$) 표준용액을 탈이온수로 희석하여 Cr 0.50, 1.00, 1.50, 2.00 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (= 5.00, 10.00, 15.00, 20.00 $\mu\text{g}/\ell$) 표준용액을 만든다.

Cr 표준용액 번호	Cr 표준용액 농도		조제법	
	$\mu\text{g}/\text{dl}$	$\mu\text{g}/\ell$	Cr 10 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 표준용액	탈이온수
1	0.50	5.00	0.5 ml	표선 10 ml
2	1.00	10.00	1.0 ml	표선 10 ml
3	1.50	15.00	1.5 ml	표선 10 ml
4	2.00	20.00	2.0 ml	표선 10 ml

5. 시료 전처리

* 전혈, 혈청 및 소변은 혼합기로 3분정도 잘 섞어준 후 취한다.

(1) 검량선작성용 시료 처리 [표준물 첨가법]

시료번호	희석액		시료		Cr 표준용액		시료 중 Cr 농도	
	(ml)	(ml)	(ml)	(용액 번호)	(ml)	($\mu\text{g}/\text{dl}$)	($\mu\text{g}/\ell$)	
addition 0	0.8	0.1	탈이온수	0.1	X + 0.00	X + 0.00		
addition 1	0.8	0.1	1	0.1	X + 0.50	X + 5.00		
addition 2	0.8	0.1	2	0.1	X + 1.00	X + 10.00		
addition 3	0.8	0.1	3	0.1	X + 1.50	X + 15.00		
addition 4	0.8	0.1	4	0.1	X + 2.00	X + 20.00		

=====						
	Urine	Water	Dil.soln.	Aq.std.		
				10 μ g/ ℓ	20 μ g/ ℓ	30 μ g/ ℓ

Reagent blank		0.7ml	0.3ml			
Std 0 μ g/ ℓ	0.2ml	0.5ml	0.3ml			
Std 5 μ g/ ℓ	0.2ml	0.4ml	0.3ml	0.1ml		
Std 10 μ g/ ℓ	0.2ml	0.4ml	0.3ml		0.1ml	
Std 15 μ g/ ℓ	0.2ml	0.4ml	0.3ml			0.1ml
Urine sample	0.2ml	0.5ml	0.3ml			

Calculation of LOD for Cd in blood (ug/dl)

LINEAR CORRELATION, $y = bx + a$ (Conc. = x, Response = y)

$$y = 0.08 * x + -0.0004, \quad r = 0.997481$$

$$(x = 12.5 * y + 0.005)$$

$$\text{Avg}(x) = 0.41$$

$$\text{Avg}(y) = 0.0324$$

$$n = 5$$

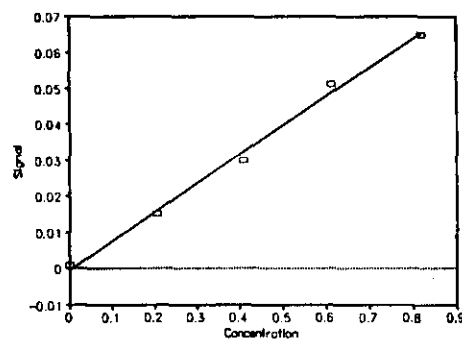
$$n-2 = 3$$

$$S_{y/x} = 0.002129$$

$$S_b = 0.003284$$

$$S_a = 0.001649$$

$$\text{LOD} = 0.079844 \quad (3SD)$$



소변중카드뮴[Flame-AAS법]

1. Fraile법

1) 시료 전처리

가. 소변시료는 1% v/v HNO₃에 보존한다.

나. 시료를 30분간 잘 섞은 후 4ml 플라스틱 튜브에서 0.05% w/v Triton X-100로 9+1로 희석한다.

다. 검량선 작성용 표준용액은 1% v/v HNO₃ - 0.05% w/v Triton X-100 용액으로 0.5-4 µg/l 범위로 매일 신선하게 준비한다.

2) 기기조건

=====

Wavelength 228.8 nm, Spectral bandwidth 0.5 nm, Lamp current 5.0 mA, sample volume 20 µl, Integration time 5 sec, Calibration mode Peak area.

Parameter	Step												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Temp. (°C)	90	120	200	425	425	425		1500	1500	2800	2800	40	40
Time (sec)	5	5	5	5	30	2	1.5	5	1	2	13	2	
Argon (ml/min)		3	3	3	3	3	0	0	0	3	3	3	3

=====

2. Subramanian법

1) 시료 전처리

가. 소변 2.5ml를 5ml 파이렉스 유리 용량플라스크에 취하고 10% (NH₄)₂HPO₄ 용액 100 µl 와 10% HNO₃ 100µl를 가한 후 탈이온수로 표선 5 ml 를 맞추고 마개를 하여 20초 동안 와류혼합기(vortex mixer)로 세게 혼돈다.

나. 이 용액을 10 µl 취하여 GFAAS에 도입한다.

다. 검량선 작성용 표준용액은 0.2% (NH₄)₂HPO₄ - 0.2% HNO₃ 으로, 매일 신선하게 준비한다.

2) 기기조건

=====

Lamp current 6.0 mA, Wavelength 228.8 nm, Slit 0.7 nm, Nitrogen flow 300 ml/min (no gas flow during the atomization cycle), Integration time 5.0 sec

	Temp. (°C)	Time (ramp/hold)
Drying step	120	30/20
Ashing step	500	10/30
Atomization step	1500	1/3
Cleaning step	2700	1/3

=====

3. 일본 마쓰시다 분석실 매뉴얼

1) 시약

가. 2% PdCl₂ 용액; PdCl₂ 1g/HCl 10ml ->탈이온수로 희석, 50ml로 함

나. 2.5% Mg(NO₃)₂ 용액: Mg(NO₃)₂ · 6H₂O 4.33g/100ml 탈이온수

다. 질산희석액:혼액solution (질산 20ml+2% PdCl₂ 10ml+2.5% Mg(NO₃)₂ 20ml)

라. Cd 표준용액; 10, 20, 30 µg/ℓ

2) 기기조건:

Zeeman AAS (Perkin Elmer 5100-ZL)

분석파장 228.8 nm, 슬릿나비 0.7 nm

=====

	Temp. (°C)	Time (ramp/hold)	Ar gas(ml/min)
Drying step 1	110	1/20	250
Drying step 2	130	1/20	250
Ashing step	700	5/20	250
Atomization step	1600	0/3	50
Cleaning step	2000	1/2	250

=====

Calibration: Method of additions calibration

(2) 시료 처리

addition 0와 같다(희석액 0.8 ml + 탈이온수 0.1 ml + 시료 0.1 ml).

6. 기기조건

6.1. Furnace parameters

Step No.	Temp(℃)	Time(sec)	Gas flow(ℓ/min)
1	90	10	3
2	90	10	3
3	110	15	3
4	110	10	3
5	1100	15	3
6	1100	15	3
7	1100	2	0
8	2600	0.8	0 read
9	2600	2	0 read
10	2750	2	3
11	2750	5	3

6.2. Method

Instrument mode: Absorbance

Calibration mode: Standard addition

Measurement mode: Peak height

6.3. Instrument parameters

Lamp current: 7 mA

Slit width: 0.2 nm

Slit height: Reduced

Wavelength: 357.9 nm

Sample introduction: Sampler premixed

Background correction: ON

6.4. Sampler

Sample volume: 30 $\mu\ell$

0.085

PROGRAM 86

SAMPLE 35

ABSORBANCE

PEAK HEIGHT

Cr serum

REPLICATE 1

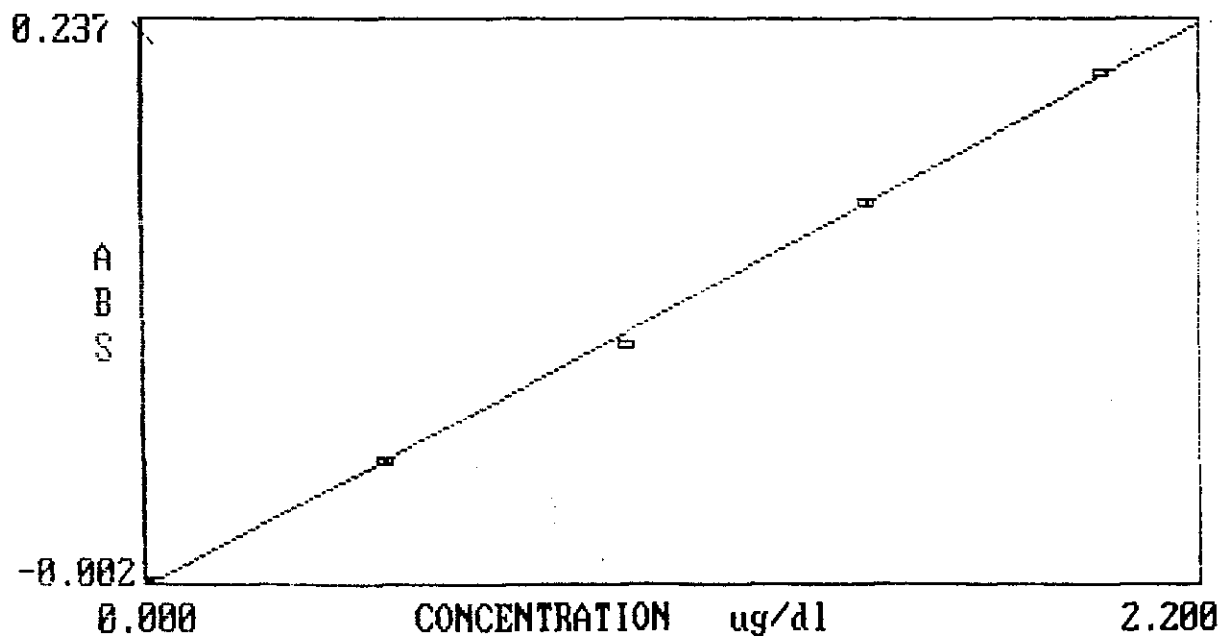
STANDARD ADDN'S SAMPLER PREMIX

MAX.ABS. 2.00 BC ON

ZEEMAN

PRINTING

CALIBRATION GRAPH



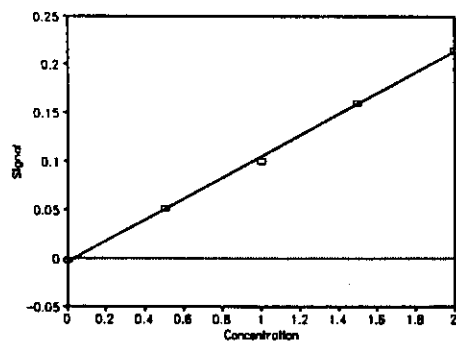
Calculation of LOD for Cr in serum (ug/dl)

LINEAR CORRELATION, $y = bx + a$ (Conc.=x, Response=y)

$$y = 0.1086 * x + -0.0038, \quad r = 0.999493$$

$$(x = 9.208103 * y + 0.034991)$$

Avg(x)= 1
 Avg(y)= 0.1048
 n= 5
 n-2= 3
 S y/x= 0.003157
 S b= 0.001997
 S a= 0.002445
 LOD= 0.08721 (3SD)



0.011

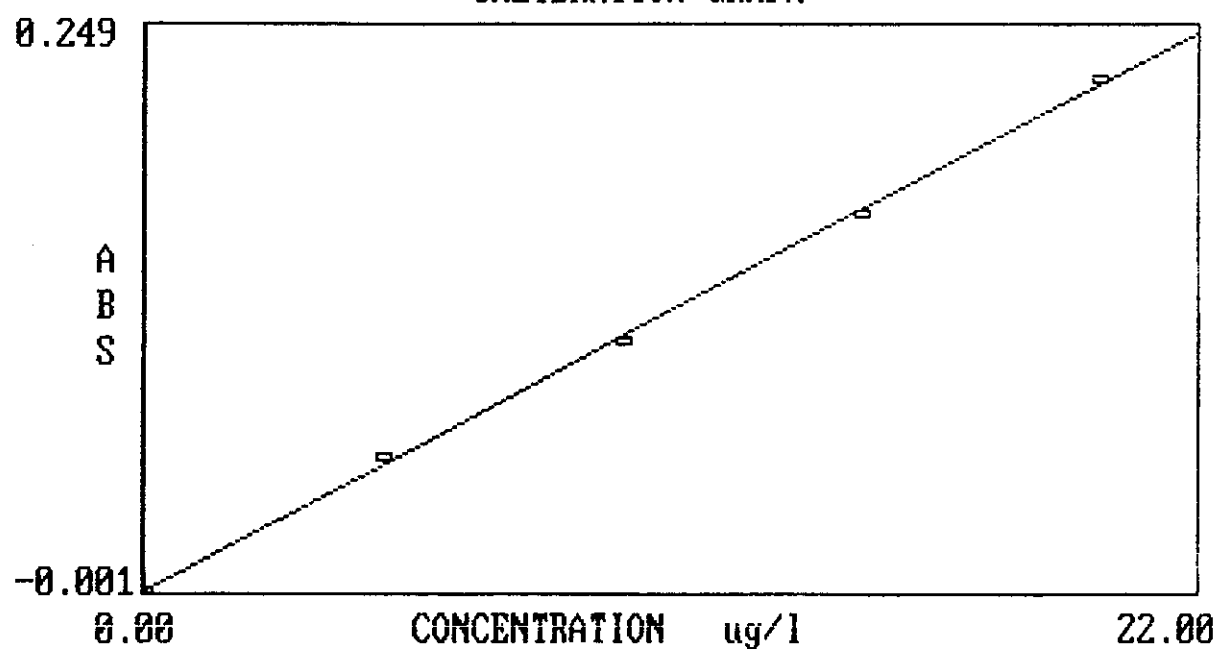
PROGRAM 85
SAMPLE 40
ABSORBANCE
PEAK HEIGHT

Cr urine
REPLICATE 1
STANDARD ADDN'S SAMPLER PREMIX
MAX.ABS. 2.00 BC ON

ZEEMAN

PRINTING

CALIBRATION GRAPH



Calculation of LOD for Cr in urine (ug/l)

LINEAR CORRELATION, $y = bx + a$ (Conc.=x, Response=y)

$$y = 0.01124 * x + -0.0008, \quad r = 0.999323$$

$$(x = 88.96797 * y + 0.071174)$$

$$\text{Avg}(x) = 10$$

$$\text{Avg}(y) = 0.1116$$

$$n = 5$$

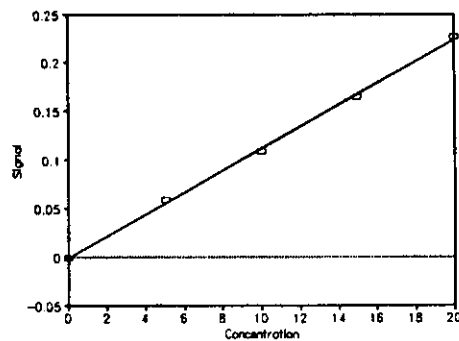
$$n-2 = 3$$

$$S_{y/x} = 0.003777$$

$$S_b = 0.000239$$

$$S_a = 0.002926$$

$$\text{LOD} = 1.008129 \text{ (3SD)}$$



전혈중망간[GF-AAS법]

1. 기구 & 시약

용량 플라스크: 1000 ml 1개, 10 ml 6개

자동 피펫: 1000 μ l, 100-1000 μ l, 100 μ l

혈액 혼합기

분주기(0.4 - 2.0 ml)

희석용 폴리스티렌 튜브 & 튜브꽂이

AAS 자동시료주입기용 폴리프로필렌 컵

Varian SpectrAA-400(Deuterium lamp correction) AAS with

Varian GTA-96 graphite tube atomizer

Pyrolytic coated partitioned tube

탈이온수

Triton X-100

Mn 표준용액(1000 ppm = 1000 μ g/ml = 100000 μ g/dl = 1000000 μ g/l)

HNO₃

2. AAS 자동시료주입기 세척용액 조제

[HNO₃ 0.1 ml
탈이온수 500 ml 되도록.

3. 희석액 조제

희석액 1000 ml 중에

[Triton X-100 1 ml
탈이온수 표선 1000 ml가 되도록.

* Triton X-100은 계면활성제로서 거품을 일으키므로 흔들어 녹이지 말고, 초음파세척기(sonicator)나 자석 교반기(magnetic stirrer)를 사용하여 용해시키거나 거품방지제(antifoaming agent)를 첨가한다.

* 1.8 ml로 맞춰진 분주기에 담아두고 사용하면 편리하다.

4. Mn 표준용액 조제

① Mn 1000 ppm 원액 0.1 ml를 탈이온수로 10 ml로 희석하여 Mn 1000 μ g/dl

표준용액을 만든다.

② Mn 1000 $\mu\text{g}/\text{d}\ell$ 표준용액 1 ml를 탈이온수로 10ml로 희석하여 Mn 100 $\mu\text{g}/\text{d}\ell$ 표준용액을 만든다.

③ Mn 100 $\mu\text{g}/\text{d}\ell$ 표준용액을 탈이온수로 희석하여 Mn 1.00, 3.00, 5.00, 7.00 $\mu\text{g}/\text{d}\ell$ 표준용액을 만든다.

Mn 표준용액 번호	Mn 표준용액 농도 ($\mu\text{g}/\text{d}\ell$)	조제법	
		Mn 100 $\mu\text{g}/\text{d}\ell$ 표준용액	탈이온수
1	1.00	0.1 ml	표선 10 ml
2	3.00	0.3 ml	표선 10 ml
3	5.00	0.5 ml	표선 10 ml
4	7.00	0.7 ml	표선 10 ml

5. 전혈 전처리

* 전혈은 혼합기로 3분정도 잘 섞어준 후 취한다.

(1) 검량선작성용 전혈 처리 [표준물 첨가법]

시료번호	희석액 (ml)	전혈 (ml)	Mn 표준용액 (용액 번호) (ml)		전혈 중 Mn 농도 ($\mu\text{g}/\text{d}\ell$)
addition 0	1.8	0.1	탈이온수	0.1	X + 0.00
addition 1	1.8	0.1	1	0.1	X + 1.00
addition 2	1.8	0.1	2	0.1	X + 3.00
addition 3	1.8	0.1	3	0.1	X + 5.00
addition 4	1.8	0.1	4	0.1	X + 7.00

(2) 시료전혈 처리

addition 0와 같다(희석액 1.8 ml + 탈이온수 0.1 ml + 시료전혈 0.1 ml).

6. 기기조건

6.1. Furnace parameters

Step No.	Temp(℃)	Time(sec)	Gas flow(ℓ /min)
1	90	10	3
2	90	10	3
3	110	15	3
4	110	10	3
5	1150	15	3
6	1150	15	3
7	1150	2	0
8	2400	0.7	0 read
9	2400	2	0 read
10	2500	2	3
11	2500	5	3

6.2. Method

Instrument mode: Absorbance

Calibration mode: Standard addition

Measurement mode: Peak height

6.3. Instrument parameters

Lamp current: 5 mA

Slit width: 0.2 nm

Slit height: Normal

Wavelength: 279.5 nm

Sample introduction: Sampler premixed

Background correction: ON

6.4. Sampler

Sample volume: 15 $\mu\ell$

0.062

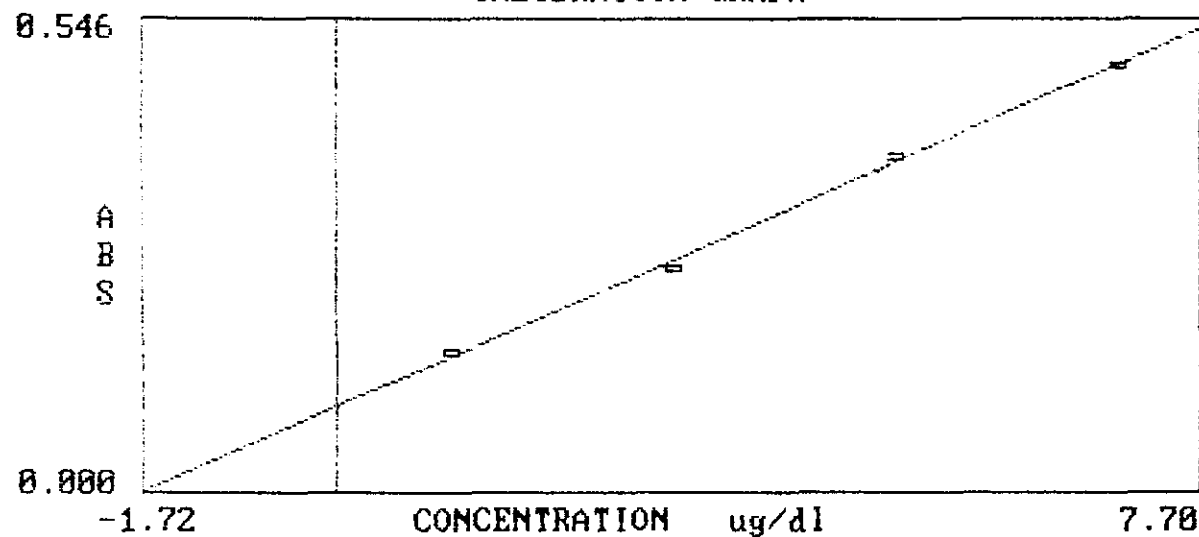
PROGRAM 89
SAMPLE 21
ABSORBANCE
PEAK HEIGHT

Mn blood
REPLICATE 1
STANDARD ADDN'S SAMPLER PREMIX
2.7 (sec) BC ON

FURNACE

PRINTING

CALIBRATION GRAPH



Calculation of LOD for Mn in blood (ug/dl)

LINEAR CORRELATION, $y = bx + a$ (Conc.=x, Response=y)

$$y = 0.057061 * x + 0.097805, \quad r = 0.999262$$

$$(x = 17.52511 * y + -1.71404)$$

$$\text{Avg}(x) = 3.2$$

$$\text{Avg}(y) = 0.2804$$

$$n = 5$$

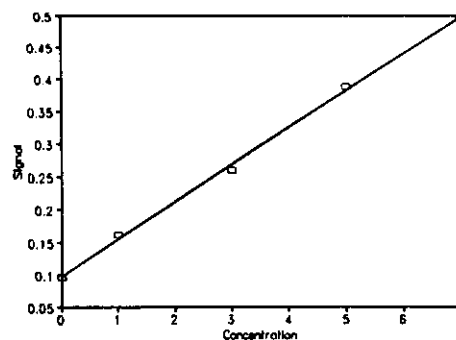
$$n-2 = 3$$

$$S_{y/x} = 0.007254$$

$$S_b = 0.001267$$

$$S_a = 0.005192$$

$$\text{LOD} = 0.381401 \text{ (3SD)}$$



소변중망간[GF-AAS법]

1. 기구 & 시약

용량 플라스크: 1000 ml 1개, 10 ml 6개

자동 피펫: 1000 μl , 100-1000 μl , 100 μl

혈액 혼합기

분주기(0.4 - 2.0 ml)

회석용 폴리스티렌 튜브 & 튜브꽂이

AAS 자동시료주입기용 폴리프로필렌 컵

Varian SpectrAA-400(Deuterium lamp correction) AAS with

Varian GTA-96 graphite tube atomizer

Pyrolytic coated partitioned tube

탈이온수

Triton X-100

Mn 표준용액(1000 ppm = 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ = 100000 $\mu\text{g}/\text{dl}$ = 1000000 $\mu\text{g}/\text{l}$)

HNO_3

2. AAS 자동시료주입기 세척용액 조제

[HNO_3	0.1 ml
[탈이온수	500 ml 되도록.

3. 회석액 조제

회석액 1000 ml 중에

[Triton X-100	1 ml
[탈이온수	표선 1000 ml가 되도록.

* Triton X-100은 계면활성제로서 거품을 일으키므로 흔들어 녹이지 말고, 초음파세척기(sonicator)나 자석 교반기(magnetic stirrer)를 사용하여 용해시키거나 거품방지제(antifoaming agent)를 첨가한다.

* 0.8 ml로 맞춰진 분주기에 담아두고 사용하면 편리하다.

4. Mn 표준용액 조제

① Mn 1000 ppm 원액 0.1 ml를 탈이온수로 10 ml로 희석하여 Mn 10000 $\mu\text{g}/\ell$ 표준용액을 만든다.

② Mn 10000 $\mu\text{g}/\ell$ 표준용액 1 ml를 탈이온수로 10ml로 희석하여 Mn 1000 $\mu\text{g}/\ell$ 표준용액을 만든다.

③ Mn 1000 $\mu\text{g}/\ell$ 표준용액을 탈이온수로 희석하여 Mn 5.00, 10.00, 20.00, 30.00 $\mu\text{g}/\ell$ 표준용액을 만든다.

Mn 표준용액 번호	Mn 표준용액 농도 ($\mu\text{g}/\ell$)	조제법	
		Mn 1000 $\mu\text{g}/\ell$ 표준용액	탈이온수
1	5.00	0.05 ml	표선 10 ml
2	10.00	0.1 ml	표선 10 ml
3	20.00	0.2 ml	표선 10 ml
4	30.00	0.3 ml	표선 10 ml

5. 소변 전처리

* 소변은 혼합기로 3분정도 잘 섞어준 후 취한다.

(1) 검량선작성용 소변 처리 [표준물 첨가법]

시료번호	희석액 (ml)	소변 (ml)	Mn 표준용액 (용액 번호) (ml)		소변 중 Mn 농도 ($\mu\text{g}/\ell$)
addition 0	0.8	0.1	탈이온수	0.1	X + 0.00
addition 1	0.8	0.1	1	0.1	X + 5.00
addition 2	0.8	0.1	2	0.1	X + 10.00
addition 3	0.8	0.1	3	0.1	X + 20.00
addition 4	0.8	0.1	4	0.1	X + 30.00

(2) 시료소변 처리

addition 0와 같다(희석액 0.8 ml + 탈이온수 0.1 ml + 시료소변 0.1 ml).

6. 기기조건

6.1. Furnace parameters

Step No.	Temp(℃)	Time(sec)	Gas flow(ℓ/min)
1	90	10	3
2	90	10	3
3	110	15	3
4	110	10	3
5	1150	15	3
6	1150	15	3
7	1150	2	0
8	2400	0.7	0 read
9	2400	2	0 read
10	2500	2	3
11	2500	5	3

6.2. Method

Instrument mode: Absorbance

Calibration mode: Standard addition

Measurement mode: Peak height

6.3. Instrument parameters

Lamp current: 5 mA

Slit width: 0.2 nm

Slit height: Normal

Wavelength: 279.5 nm

Sample introduction: Sampler premixed

Background correction: ON

6.4. Sampler

Sample volume: 15 $\mu\ell$

1.462

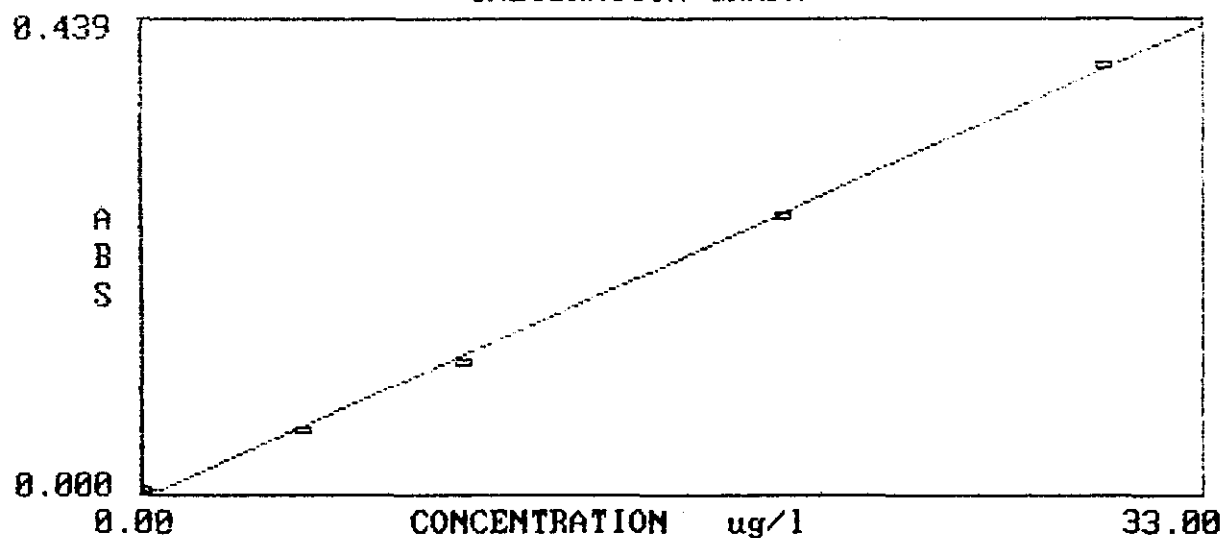
PROGRAM 87
SAMPLE 25
ABSORBANCE
PEAK HEIGHT

Mn urine
REPLICATE 1
STANDARD ADDN'S SAMPLER PREMIX
2.7 (sec) BC ON

FURNAC

PRINTING

CALIBRATION GRAPH



Calculation of LOD for Mn in urine (ug/l)

LINEAR CORRELATION, $y = bx + a$ (Conc. = x, Response = y)

$$y = 0.012969 * x + -0.00138, \quad r = 0.999472$$

$$(x = 77.10886 * y + 0.106542)$$

$$\text{Avg}(x) = 13$$

$$\text{Avg}(y) = 0.167211$$

$$n = 5$$

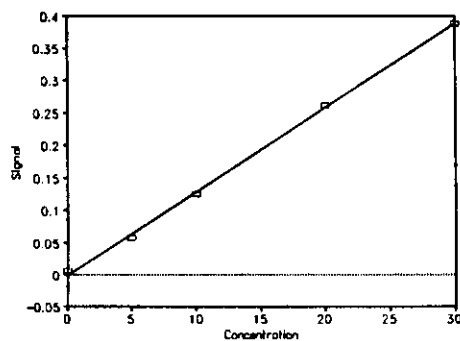
$$n-2 = 3$$

$$S_{y/x} = 0.00586$$

$$S_b = 0.000243$$

$$S_a = 0.004108$$

$$\text{LOD} = 1.355621 \quad (3SD)$$



소변중수은[VG-AAS법]

1. 기구 & 시약

용량 플라스크: 1000 ml 1개, 100 ml 9개

피펫: 10 ml

피펫 필러 (pipette filler)

자동 피펫: 100-1000 μl , 1000 μl

와류혼합기

비이커: 100 ml 2개

뚜껑있는 바이알 또는 시험관: 20 ml 이상, 갯수는 시료갯수 + 3개

Varian SpectrAA-400(Deuterium lamp correction) AAS with

Varian VGA-76 vapor generation accessory

탈이온수

HCl(37%)

NaOH

KMnO₄

H₂SO₄

NH₂OH · HCl

Hg 표준용액 (1000 ppm = 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ = 100000 $\mu\text{g}/\text{dl}$ = 1000000 $\mu\text{g}/\text{l}$)

2. 20% NH₂OH · HCl 용액 조제

┌ NH ₂ OH · HCl	20 g
└ 탈이온수	100 ml 되도록

3. Vapor generation accessory용 시약 조제

3.1. 5M HCl

┌ c-HCl(37%)	410 ml
└ 탈이온수	1000 ml 되도록

3.2. 0.3% NaBH₄ [실험당일 조제]

┌ NaBH ₄	0.3 g
└ 탈이온수	100 ml 되도록

3.3. 0.5% NaOH

┌ NaOH	0.5 g
└ 탈이온수	100 ml 되도록

4. 시료 전처리

- ① 20 ml 정도의 바이알이나 시험관에 소변 10 ml를 취하고 KMnO_4 0.5 g를 가하여 잘 섞는다.
- ② c- H_2SO_4 1 ml를 가하여 섞고 3시간 정도 방치한다.
- ③ 20% $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ 용액 약 2 ml를 가하여 과량의 KMnO_4 를 환원탈색시킨다.

5. Hg 표준용액 조제 [실험당일 조제]

- ① Hg 1000 ppm 원액 0.1 ml를 취해 탈이온수로 100 ml로 희석하여 $1000 \mu\text{g}/\ell$ 표준용액을 만든다.
- ② Hg $1000 \mu\text{g}/\ell$ 표준용액을 탈이온수로 희석하여 Hg 5.00, 10.00, 15.00, 20.00 $\mu\text{g}/\ell$ 표준용액을 만든다.

표준용액 농도		조제법
$\mu\text{g}/\ell = \text{ppb}$	1000 $\mu\text{g}/\ell$ 표준용액	탈이온수
5.00	0.5 ml	표선 100ml
10.00	1 ml	표선 100ml
15.00	1.5 ml	표선 100ml
20.00	2 ml	표선 100ml

- ③ 시료와 똑같이 처리하여 측정용으로 한다 [$10 \text{ ml} + \text{KMnO}_4 + \text{c-}\text{H}_2\text{SO}_4 + 20\% \text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$].

6. 기기조건

6.1. Method

Instrument mode: Absorbance
 Calibration mode: Concentration
 Measurement mode: Integration

6.2. Instrument parameters

Lamp current: 4 mA

Slit width: 0.5 nm

Slit height: normal

Wavelength: 253.7 nm

(Flame: Air-acetylene)

Sample introduction: Manual

Replicates: 3

Measurement time: 2.0 sec

Delay time: 60 sec

Background correction: ON

6.3. VGA-76

Acid channel: 5M HCl, 유속 1 mL/min

Reductant channel: 0.3% NaBH₄ + 0.5% NaOH, 유속 1 mL/min

Sample channel: 유속 8 mL/min

7. 주의

- ① 20% NH₂OH · HCl 용액 가할때는 조금씩 여러번 vortex mixing하면서 사이사이 뚜껑 열어서 가스를 빼주어야 넘치지 않는다.
- ② 우선 시료 처리를 하고, 방치하는 3시간 동안 필요한 시약을 조제하는 것이 편리하다.

120

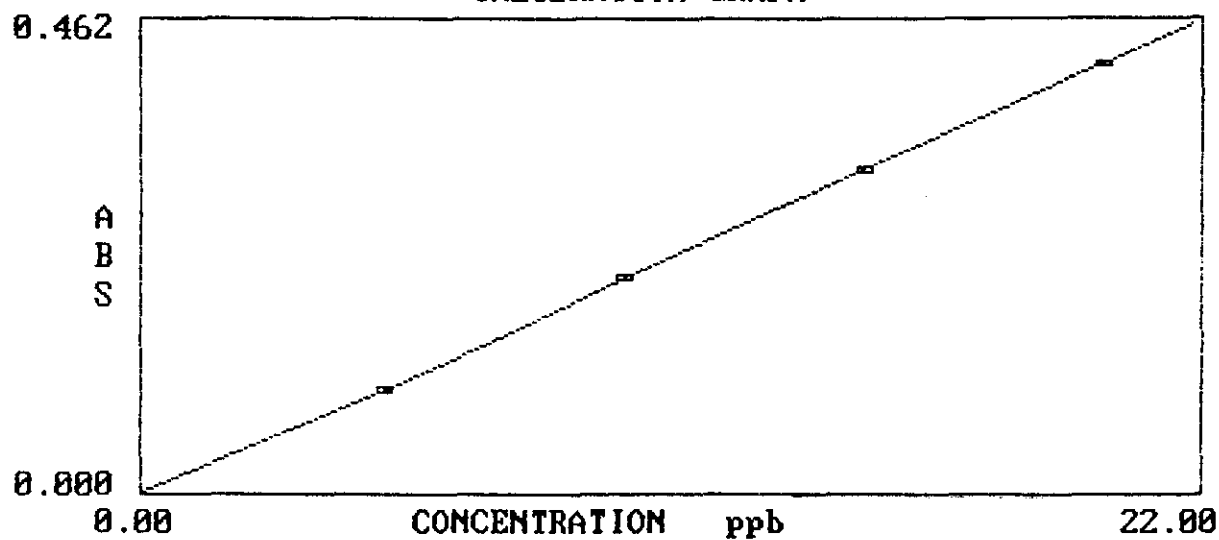
PROGRAM 1
SAMPLE 1
ABSORBANCE
INTEGRATION

Hg UGA
REPLICATE 1
CONCENTRATION
2.0 (sec)
MANUAL
BC ON
AIR-ACETYLENE

FLAME

IG

CALIBRATION GRAPH



HgU-4

Calculation of LOD for Hg in urine (ug/l)

LINEAR CORRELATION, $y = bx + a$ (Conc. = x, Response = y)

$$y = 0.02124 * x + -0.004, \quad r = 0.999957$$

$$(x = 47.08098 * y + 0.188324)$$

$$\text{Avg}(x) = 12.5$$

$$\text{Avg}(y) = 0.2615$$

$$n = 4$$

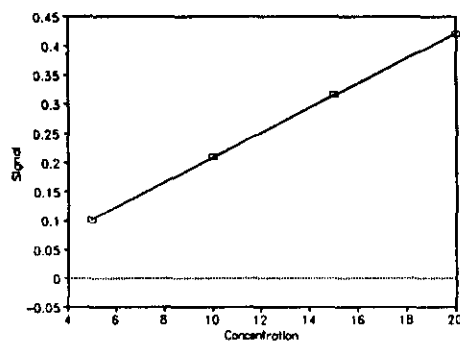
$$n-2 = 2$$

$$S_{y/x} = 0.001549$$

$$S_b = 0.000139$$

$$S_a = 0.001897$$

$$\text{LOD} = 0.218813 \quad (3SD)$$



전혈중수은[VG-AAS법]

1. 시료 전처리

1) Trepka법

가. 1ml 전혈을 vortexing하고 Triton X-100 20 μl , 산 혼액 (1.5% HNO_3 : 1.5% H_2SO_4) 9 ml, 1-옥탄올 0.250 μl , 5% KMnO_4 용액 몇방울을 가한다. 반응 용기의 가장자리에 실리콘 디포머(silicon defoamer)를 발라둔다.

나. 시료를 NaBH_4 와 혼합하여 증기생성-원자흡광분석기에 도입한다.

(일간 정밀도 8.5%, 0.215-0.618 $\mu\text{g}/\text{l}$, 정확도 -22.3-2.3%)

2) Nixon법

(1) 시약

① 0.05% $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$: $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 0.5 g을 탈이온수 1000 ml에 녹인다.

② 5% KMnO_4 : KMnO_4 25 g을 탈이온수 500 ml에 녹인다.

갈색병에 담아 실온에 보관한다.

③ 5% HCl : conc. HCl 50 ml을 탈이온수 1000 ml에 가한다.

④ 3% HCl : conc. HCl 240 ml, silicone antifoaming agent 5 ml 를 탈이온수 8000 ml에 녹인다.

⑤ 5% SnCl_2 : 신선한 SnCl_2 50 g을 5% HCl 1000 ml에 녹인다.

⑥ 회화용 산혼액 : 탈이온수 1500 ml, conc. HNO_3 250 ml, conc. H_2SO_4 250ml 를 혼합한다.

⑦ Hg 표준용액: 시판되는 1000 ppm 용액을 0.05% $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 용액으로 희석하여 조제한다.

(2) 무기수은 분석을 위한 전처리 (고전적인 강산-과망간산염 회화)

가. 회화용 산혼액 6.5 ml에 5% KMnO_4 2 ml를 가하고 잘 섞는다.

나. 전혈 0.5 ml (소변의 경우 1.0 ml)를 가하고 실온에서 60분간 매 15분마다 vortex한다.

다. 3000 rpm에서 10분간 원심분리하고 상등액을 따라낸다. 탈이온수를 가해 부피를 9.0 ml 로 조절한다.

(3) 유기수는 분석을 위한 전처리 (강산-과황산염 회화)

가. $K_2S_2O_8$ 0.2 g, conc. HNO_3 4 ml, H_2SO_4 0.5 ml 를 잘 섞는다. 전혈 0.5 ml (소변의 경우 1.0 ml)를 가하고 dry block heater에서 95 °C 로 30분 동안 가열한다.

나. 거품발생이 그치고 질소산화물의 흡이 혼합물 위에 나타나면 회화가 완결된 것으로 본다.

2. 기기조건

- spectrophotometer	wavelength	253.7 nm
	slit	0.7 nm
- liquid flow rates	5% $SnCl_2$	1.14 ml/min
	3% HCl	1.40 ml/min
	sample	1.40 ml/min
- gas flow rate	argon	60 cm ³ /min

혈중톨루엔[헤드스페이스 GC-FID법]

* 기구 및 시약

톨루엔	용량플라스크 1L 1개, 10ml 4개
이소부탄올 20ppm 수용액	자동피펫 10-100 μ l, 200-1000 μ l
탈이온수	헤드스페이스 GC용 바이알
Citric acid dextrose용액	
(Citric acid 4.8g, sodium citrate 13.2g, dextrose 14.7g -> 1l탈이온수)	

* 표준용액 조제

- ① 톨루엔 20mg(23 μ l)/100ml 탈이온수(200ppm)
- ② 200ppm 0.5ml -> 10ml(10ppm) 0ml -> 10ml : Blank
0.5ml -> 10ml : 0.5ppm -> 0.05ppm
1.5ml -> 10ml : 1.5ppm -> 0.15ppm
2.5ml -> 10ml : 2.5ppm -> 0.25ppm

* 표준용액 및 시료 전처리

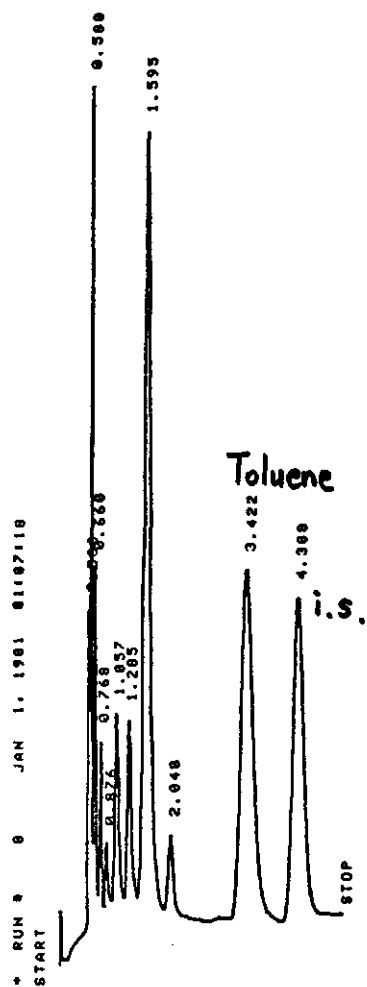
시료 혹은 표준용액 1ml
↓ 내부표준용액 0.5ml
↓ Citric acid dextrose용액 0.5ml
헤드스페이스 GC 측정

* GC 조건

- 1) 컬럼 Carbowax-20 25m x 0.32mm ID x 0.3 μ m film thickness
- 2) 온도
 - Oven 70 $^{\circ}$ C
 - Injector 220 $^{\circ}$ C
 - Detector(ECD) 250 $^{\circ}$ C
- 3) Flow : Total 100ml/min
- 4) Split ratio 50:1

* 헤드스페이스 조건

- | | |
|----------------------------|-----------------|
| 1) 온도 : 시료 60 $^{\circ}$ C | 2) 시간 : 가열 120분 |
| 주입관 65 $^{\circ}$ C | 가압 10초 |
| | 주입 30초 |



헨켈크로실렌[헤드스페이스 GC-FID법]

* 기구 및 시약

o-,m-,p-크로실렌	용량플라스크 1L 1개, 10ml 4개
이소부탄올 20ppm 수용액	자동피펫 10-100 μ l, 200-1000 μ l
탈이온수	헤드스페이스 GC용 바이알
Citric acid dextrose용액	
(Citric acid 4.8g, sodium citrate 13.2g, dextrose 14.7g -> 1l탈이온수)	

* 표준용액 조제

- ① o-,m-,p-크로실렌 20mg(23 μ l)/100ml 탈이온수(200ppm)
- ② 200ppm 0.5ml -> 10ml(10ppm) 0ml -> 10ml : Blank
0.5ml -> 10ml : 0.5ppm
1.5ml -> 10ml : 1.5ppm
2.5ml -> 10ml : 2.5ppm

* 표준용액 및 시료 전처리

시료 혹은 표준용액 1ml
↓ 내부표준용액 0.5ml
↓ Citric acid dextrose용액 0.5ml
헤드스페이스 GC 측정

* GC 조건

- 1) 컬럼 Carbowax-20 25m x 0.32mm ID x 0.3 μ m film thickness
- 2) 온도
 - Oven 70℃
 - Injector 220℃
 - Detector(ECD) 250℃
- 3) Flow : Total 100ml/min
- 4) Split ratio 50:1

* 헤드스페이스 조건

- | | |
|----------------|-----------------|
| 1) 온도 : 시료 60℃ | 2) 시간 : 가열 120분 |
| 주입관 65℃ | 가압 10초 |
| | 주입 30초 |

요충만델린산,마노산,메틸마노산,페닐글리옥실산[HPLC-UV검출법]

*** 기구 및 시약**

만델린산	용량플라스크 100ml 1개, 10ml 5개
마노산	피펫 1,3,5ml
o-메틸마노산	시험관 5ml
m-메틸마노산	주사기 2ml
p-메틸마노산	멤브레인필터 0.45μm
페닐글리옥실산	
탈이온수	

*** 표준용액 조제**

- ① 만델린산, 메틸마노산, 페닐글리옥실산 0.5g/100ml 탈이온수(500ppm)
 마노산 3g/100ml 탈이온수(3000ppm)

- ② 마노산 만델린산,메틸마노산,PGA 마노산 만델린산,메틸마노산,PGA
- | | | |
|-----------------|----------------|-----------------|
| 3000ppm, 500ppm | 0 ml -> 10ml : | Blank |
| | 1 ml -> 10ml : | 300ppm, 50ppm |
| | 3 ml -> 10ml : | 900ppm, 150ppm |
| | 5 ml -> 10ml : | 1500ppm, 250ppm |
| | 7 ml -> 10ml : | 2100ppm, 350ppm |
| | 9 ml -> 10ml : | 2700ppm, 450ppm |

*** 시료 전처리**

- 소변은 blood mixer로 3분정도 잘 섞어준 후 취한다.

표준용액, 시료 200μl

↓ 탈이온수 2ml, 혼합

멤브레인필터 0.45μm에서 여과

↓

여액을 HPLC에 주입

*** HPLC 조건**

1) 컬럼 : C18(5μm), 15cm x 2.1mm

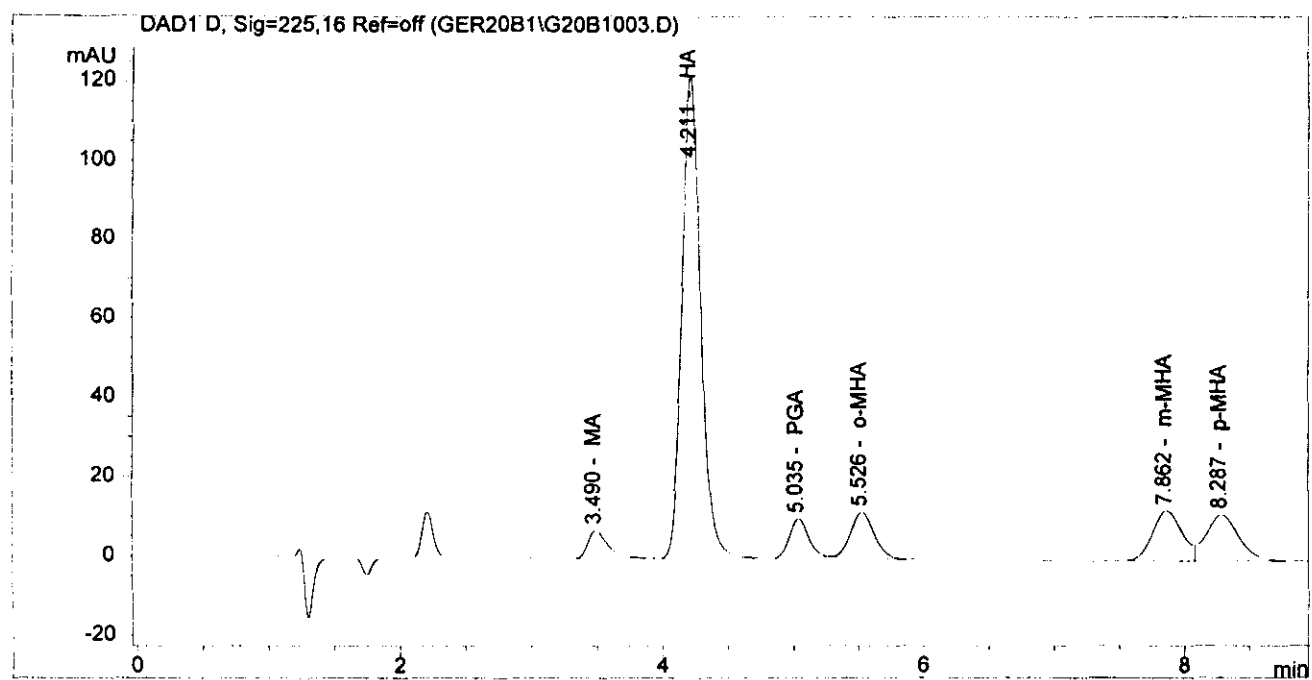
2) 이동상 :

가. (n-tetrabutylammonium bromide 5.5g + KH₂PO₄ 1.5g/1L DDW)
 : MeOH = 10 : 6 (v/v)

나. 탈이온수 : 아세토니트릴 : 초산 = 900 : 100 : 0.2 (v/v)

3) 유속 : 0.3ml/min

4) 검출기 : UV 225nm



요충마노산 [UV법]

* 기구 및 시약

마노산	용량플라스크 100ml 1개, 10ml 4개
피리딘	피펫 200μl, 500μl, 1ml, 3ml
Benzenesulfonyl chloride	마개달린 시험관 10ml
에탄올	
탈이온수	

* 표준용액 조제

- ① 마노산 1g/100ml 탈이온수(1000ppm)
- ② 1000ppm 0 ml -> 10ml : Blank
 1 ml -> 10ml : 100ppm
 2 ml -> 10ml : 200ppm
 3 ml -> 10ml : 300ppm
 4 ml -> 10ml : 400ppm

2) 측정

- 소변은 blood mixer로 3분정도 잘 섞어준 후 취한다.

표준용액, 시료 0.5ml

↓ pyridine 0.5ml

↓ benzenesulfonyl chloride 0.2ml

↓ 20 - 30℃에서 30분 방치

↓ 에탄올5ml

UV 측정(410nm)

o-크레졸, m-크레졸, p-크레졸[GC-FID법]

*** 시약 및 기구**

탈이온수	용량플라스크 100ml 1개, 10ml 5개
o-크레졸	자동피펫 1000 μ l
m-크레졸	마개달린 시험관 10ml 시료수 + 5개
p-크레졸	
Isopropyl ether	
염산	

*** 표준용액 조제**

① o-크레졸 100mg(105 μ l), m-크레졸, p-크레졸 100mg(103 μ l)
/100ml 탈이온수(1000ppm)

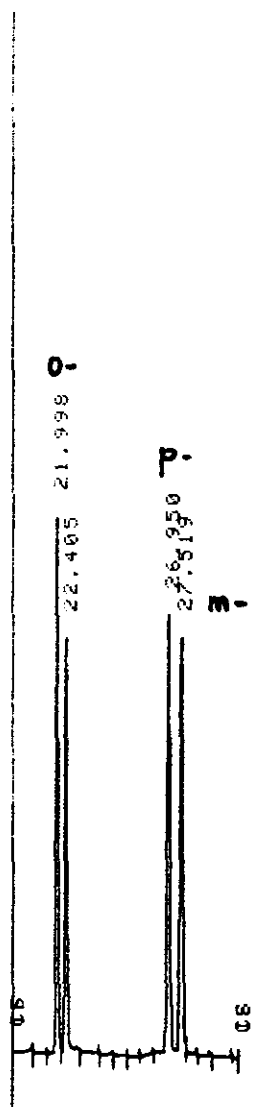
② 1000ppm 0 ml -> 10ml : Blank
 0.2 ml -> 10ml : 20ppm
 0.4 ml -> 10ml : 40ppm
 0.6 ml -> 10ml : 60ppm

*** 시료 전처리**

- 소변은 blood mixer로 3분 정도 잘 섞어준 후 취한다.
시료 1ml : 마개달린 시험관
↓ 탈이온수 4ml
↓ 염산 1ml
↓ 100도, 30분 가수분해 : 수조의 뚜껑은 열어둔다.
↓ 냉각
Isopropyl ether 1ml
↓ 손으로 잘 흔들어 추출
↓ 3000rpm, 8분 원심분리
Ether층을 GC에 주입

*** GC 조건**

- 1) 컬럼 Carbowax-20 50m x 0.32mm ID x 0.3 μ m film thickness
- 2) 온도
 - Injector 250 $^{\circ}$ C
 - Detector(FID) 250 $^{\circ}$ C
 - Oven 180 $^{\circ}$ C
- 3) Flow : Total 100ml/min
- 4) Split ratio 50:1



Cresol-2

요중 t,t-muconic acid[HPLC-UV검출법]

*** 기구 및 시약**

t,t-Muconic acid	용량플라스크 1000ml 1개, 100ml 3개, 10ml 6개
탈이온수	메스플라스크 100ml, 1000ml
메탄올(HPLC급)	자동피펫 100-1000μl, 1000μl
에탄올	피펫 10ml
초산 1%용액	시험관 10ml
	진공 고상추출장치
	C ₁₈ 고상추출 카트리지(1000mg)

*** 표준용액 조제**

- ① t,t-Muconic acid 10mg/(5ml 에탄올, 1% 초산)100ml(100ppm)
- ② 100ppm 20ml -> 100ml(20ppm) 0 ml -> 10ml : Blank
0.5ml -> 10ml : 1ppm -> 0.1ppm
2.5ml -> 10ml : 5ppm -> 0.5ppm
5.0ml -> 10ml : 10ppm
7.5ml -> 10ml : 15ppm

*** 표준용액 및 시료 전처리**

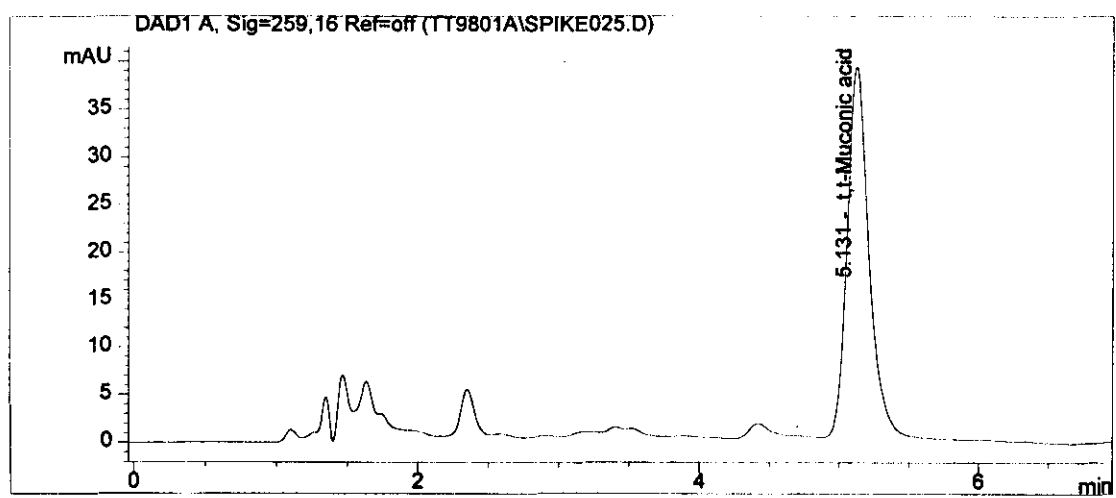
C₁₈ 고상추출 카트리지
↓ 메탄올 3ml
↓ 탈이온수 3ml
시료 혹은 표준용액 1ml
↓ 10-15분 흡착
↓ 탈이온수 3ml
↓ 진공 건조
↓ 메탄올 2ml, 2회

HPLC 측정

*** HPLC 조건**

- 1) 컬럼 : C₁₈(5μm), 15cm x 2.1mm
- 2) 이동상
1% 초산 : 메탄올 = 10:1(v/v)
- 3) 유속 : 0.3ml/min
- 4) 검출기 : UV검출기(259nm)

t,t-MA-2



요중페놀[GC-FID법]

* 시약 및 기구

탈이온수 용량플라스크 100ml 1개, 10ml 5개
페놀 자동피펫 1000 μ l
Isopropyl ether 마개달린 시험관 10ml 시료수 + 5개
염산

* 표준용액 조제

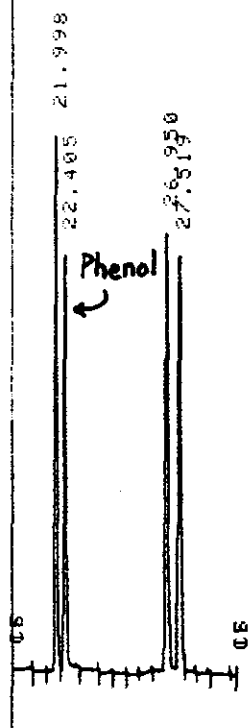
- ① 페놀 100mg/100ml 탈이온수(1000ppm)
- ② 1000ppm 0 ml -> 10ml : Blank
 0.2 ml -> 10ml : 20ppm
 0.4 ml -> 10ml : 40ppm
 0.6 ml -> 10ml : 60ppm

* 시료 전처리

- 소변은 blood mixer로 3분정도 잘 섞어준 후 취한다.
 - 시료 1ml : 마개달린 시험관
 - ↓ 탈이온수 4ml
 - ↓ 염산 1ml
 - ↓ 100도, 30분 가수분해 : 수조의 뚜껑은 열어둔다.
 - ↓ 냉각
 - Isopropyl ether 1ml
 - ↓ 손으로 잘 흔들어 추출
 - ↓ 3000rpm, 8분 원심분리
 - Ether층을 GC에 주입

* GC 조건

- 1) 컬럼 Carbowax-20 50m x 0.32mm ID x 0.3 μ m film thickness
- 2) 온도
 - Injector 250 $^{\circ}$ C
 - Detector(FID) 250 $^{\circ}$ C
 - Oven 180 $^{\circ}$ C
- 3) Flow : Total 100ml/min
- 4) Split ratio 50:1



Phenol-2

혈중트리클로로에탄올[헤드스페이스 GC-FID법]

*** 기구 및 시약**

트리클로로에탄올	용량플라스크 1L 1개, 10ml 4개
이소부탄올 20ppm 수용액	자동피펫 10-100 μ l, 200-1000 μ l
탈이온수	헤드스페이스 GC용 바이알
Citric acid dextrose용액	
(Citric acid 4.8g, sodium citrate 13.2g, dextrose 14.7g -> 1l탈이온수)	

*** 표준용액 조제**

- ① 트리클로로에탄올 20mg(13 μ l)/100ml 탈이온수 (200ppm)
- ② 200ppm 0.5ml -> 10ml(10ppm) 0ml -> 10ml : Blank
 - 1ml -> 10ml : 1ppm
 - 3ml -> 10ml : 3ppm
 - 5ml -> 10ml : 5ppm

*** 표준용액 및 시료 전처리**

시료 혹은 표준용액 1ml
↓ 내부표준용액 0.5ml
↓ Citric acid dextrose용액 0.5ml
헤드스페이스 GC 측정

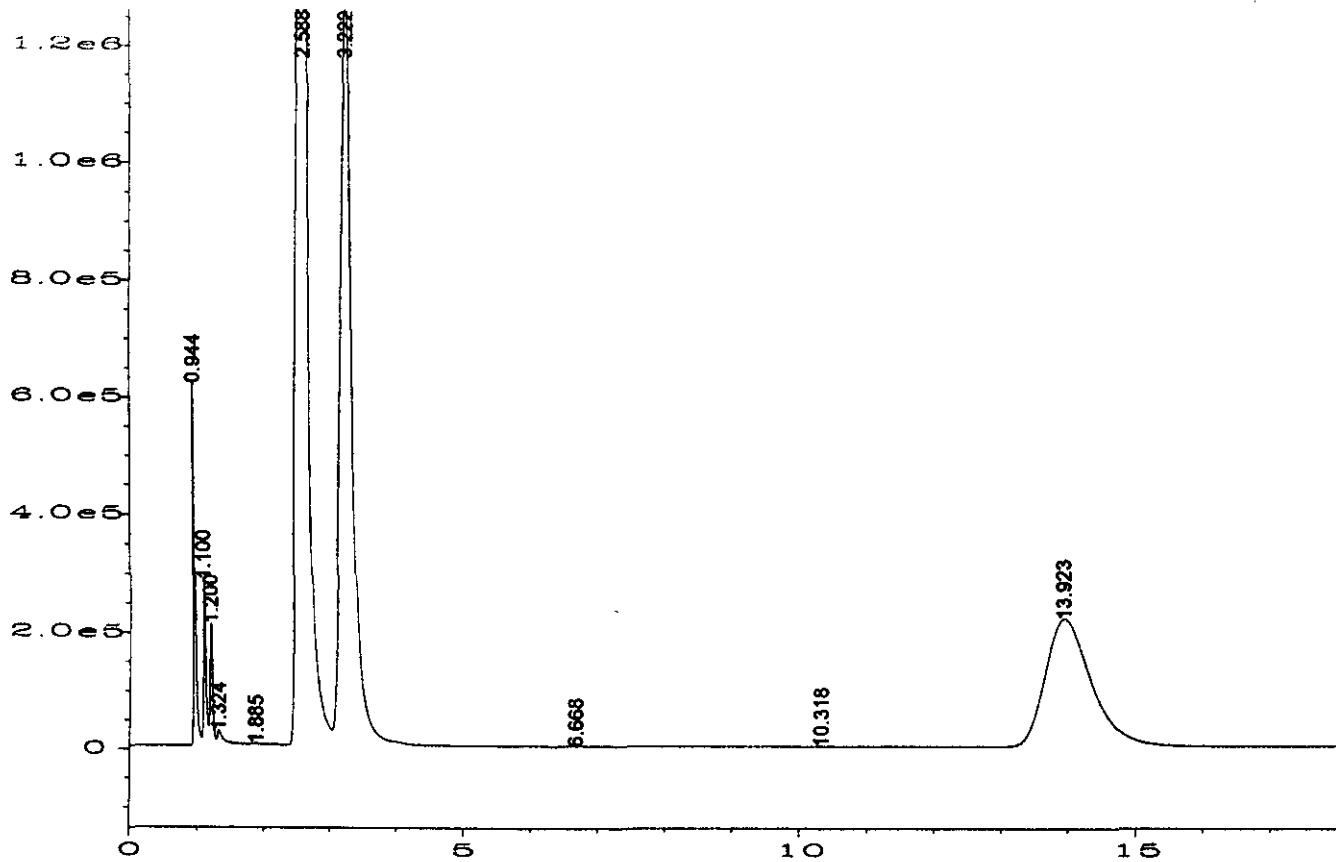
*** GC 조건**

- 1) 컬럼 Carbowax-20 25m x 0.32mm ID x 0.3 μ m film thickness
- 2) 온도
 - Oven 70 $^{\circ}$ C
 - Injector 220 $^{\circ}$ C
 - Detector(ECD) 250 $^{\circ}$ C
- 3) Flow : Total 100ml/min
- 4) Split ratio 50:1

*** 헤드스페이스 조건**

- | | |
|----------------------------|-----------------|
| 1) 온도 : 시료 60 $^{\circ}$ C | 2) 시간 : 가열 120분 |
| 주입관 65 $^{\circ}$ C | 가압 10초 |
| | 주입 30초 |

TCEtOH-2



요증삼염화에탄올,삼염화초산[Headspace GC-ECD법]

* 기구 및 시약

삼염화에탄올	용량플라스크 100ml 1개, 10ml 5개
삼염화초산	피펫 10-100μl, 200-1000μl
황산	헤드스페이스 GC용 바이알
메탄올	
탈이온수	
1,2-Dibromomethane	40ppm(내부표준용액)

* 표준용액 조제

- ① 삼염화에탄올 100mg(65μl), 삼염화초산 100mg/100ml 탈이온수(1000ppm)
- ② 1000ppm 10ml -> 100ml(100ppm)

0 ml -> 10ml :	Blank
2 ml -> 10ml :	20ppm
4 ml -> 10ml :	40ppm
6 ml -> 10ml :	60ppm
8 ml -> 10ml :	80ppm

* 표준용액 및 시료 전처리

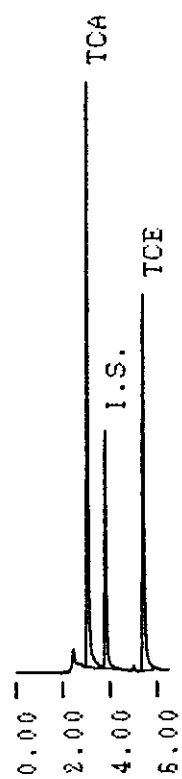
시료 혹은 표준용액 100μl
↓ 내부표준용액 100μl
↓ 황산 500μl
↓ 메탄올 100μl
헤드스페이스 GC 측정

* GC 조건

- 1) 컬럼 Carbowax-20 25m x 0.32mm ID x 0.3μm film thickness
- 2) 온도
 - Oven 80℃(5분) - 10℃/분 - 150℃(3분)
 - Injector 220℃
 - Detector(ECD) 250℃
- 3) Flow : Total 100ml/min
- 4) Split ratio 50:1

* 헤드스페이스 조건

- | | | | |
|------------|-----|------------|-----|
| 1) 온도 : 시료 | 80℃ | 2) 시간 : 가열 | 60분 |
| 주입관 | 85℃ | 가압 | 20초 |
| | | 주입 | 10초 |



요증메틸알코올, 에틸알코올, 아소프로필알코올, 아세톤, 메틸에틸케톤, 메틸이소부틸케톤 [헤드스페이스 GC-FID법]

* 시약 및 기구

용량플라스크 100ml 9개	메탄올
자동피펫 500-2500 μ l, 10ml	에탄올
헤드스페이스 바이알 10ml	이소프로판올
	아세톤
	메틸에틸케톤(MEK)
	메틸이소부틸케톤(MIBK)
	탈이온수

* 표준용액 조제

① 메탄올 1g(12.6ml)/100ml 탈이온수(10,000ppm) 10ml -> 100ml : 1000ppm
 아세톤 1g(12.7ml)/100ml 탈이온수(10,000ppm) 5ml 500ppm
 MEK 0.1g(1.24ml)/100ml 탈이온수(1000ppm) 1ml 10ppm
 MIBK 0.1g(1.25ml)/100ml 탈이온수(1000ppm) 1ml 10ppm
 에탄올, 이소프로판올 1g(12.7ml)/100ml 탈이온수(10,000ppm) 3ml 300ppm

② 메탄올(1000ppm) 0, 1, 2, 3ml -> 10ml : 메탄올 0, 100, 200, 300 ppm
 아세톤(500ppm) 아세톤 0, 50, 100, 150 ppm
 MEK, MIBK(10ppm) MEK, MIBK 0, 1, 2, 3 ppm
 에탄올, 이소프로판올(300ppm) 에탄올, 이소프로판올 0, 30, 60, 90 ppm

* 시료 전처리

- 시료는 blood mixer로 3분정도 잘 섞어준 후 취한다.

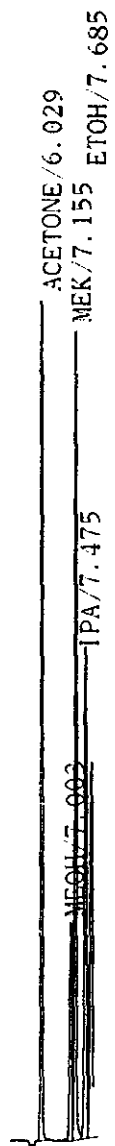
시료나 표준용액 2ml
 ↓ 헤드스페이스바이알
 GC에 주입

* GC 조건

1) 컬럼 Carbowax 20M 60m x 0.32mm ID x 0.3 μ m film thickness
 2) 온도 : Oven 60 $^{\circ}$ C
 Injector 250 $^{\circ}$ C
 Detector(FID) 300 $^{\circ}$ C
 3) Flow : Total 100ml/min
 4) Split ratio 50:1

* 헤드스페이스 조건

1) 온도	2) 시간
- 시료 50 $^{\circ}$ C	- 가열 15분
- 주입관 150 $^{\circ}$ C	- 가압 0.5분
	- 주입 0.02분



요 중 2,5-hexanedione[GC-FID법]

*** 시약 및 기구**

2,5-Hexanedione	용량플라스크 100ml 2개, 10ml 5개
탈이온수	자동피펫 500-2500 μ l
염산	마개달린 시험관 10ml
황산나트륨	
6ppm Cyclohexanone(i.s.)/디클로로메탄	

*** 표준용액 조제**

- ① 2,5-Hexanedione 100mg(103.1 μ l)/100ml 탈이온수(1000ppm)
- ② 1000ppm 1ml -> 100ml(10ppm) 0 ml -> 10ml : Blank
1 ml -> 10ml : 1ppm
3 ml -> 10ml : 3ppm
5 ml -> 10ml : 5ppm

*** 시료 전처리**

- 시료는 blood mixer로 3분정도 잘 섞어준 후 취한다.

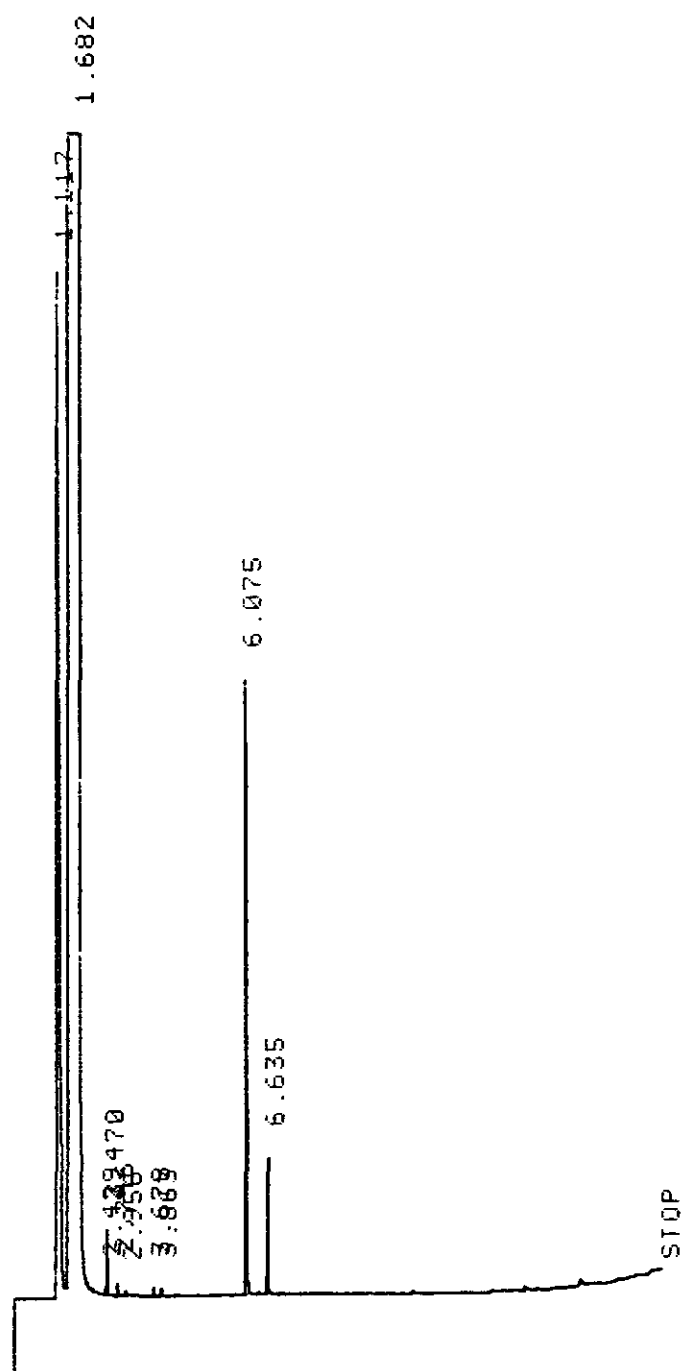
시료나 표준용액 2ml : 마개달린 시험관

- ↓ 염산 0.1ml
- ↓ 100℃, 30분 가수분해
- ↓ 냉각
- ↓ 디클로로메탄 2ml(내부표준물질 포함), 추출
- ↓ 3000rpm, 8분 원심분리
- ↓ 위층의 수층 제거
- ↓ 황산나트륨 1g, 잘 흔들
- ↓ 3000rpm, 8분 원심분리

디클로로메탄층을 GC에 주입

*** GC 조건**

- 1) 컬럼 OV-1 25m x 0.32mm ID x 0.3 μ m film thickness
- 2) 온도
 - Oven 40℃(1분) - (10℃/1분) - 200℃
 - Injector 210℃
 - Detector(FID) 260℃
- 3) Flow : Total 100ml/min
- 4) Split ratio 50:1



요 중 N-methylformamide(NMF)[GC-FID법]

*** 기구 및 시약**

용량플라스크 100ml 1개, 25ml 1개, 10ml 3개

자동피펫 2.5ml, 100 μ l

시험관 10ml

N-methylformamide

탈이온수

메탄올

*** 표준용액 조제**

① N-methylformamide 100 μ l(101.1mg)/100ml탈이온수(1011ppm)

② 1011ppm 1ml -> 25ml(40.4ppm) 0 ml -> 10ml : Blank

2.5 ml -> 10ml : 10.1ppm

5.0 ml -> 10ml : 20.2ppm

7.5 ml -> 10ml : 30.3ppm

*** 시료 전처리**

- 소변은 blood mixer로 3분정도 잘 섞어준 후 취한다.

표준용액, 시료 1ml

↓ 메탄올 1ml

↓ 3000rpm, 5분 원심분리

용액을 GC에 주입

*** GC 조건**

1) 컬럼 Carbowax-20 30m x 0.32mm ID x 0.3 μ m film thickness

2) 온도

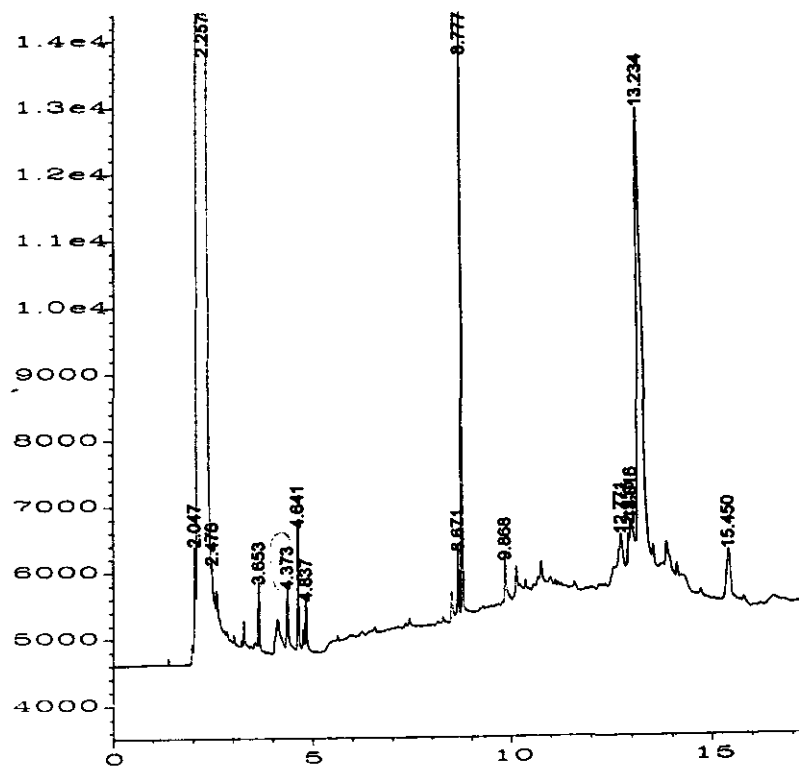
- Injector 200 $^{\circ}$ C

- 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



NMF-2