

# 양극 벗김 전압전류법 (Anodic stripping voltammetry: ASV)을 이용한 인체 타액 내 납과 카드뮴의 검출: 예비 연구

강릉대학교 치과대학 구강내과 · 진단학 교실 및 구강과학연구소

김영준 · 김 철

본 연구는, 양극 벗김 전압전류법 (Anodic stripping voltammetry: ASV)을 이용하여, 전처리 과정 (pre-treatment procedure)에 따른 인체 타액내 납 (Pb)과 카드뮴 (Cd)의 검출농도의 차이를 비교하기 위하여 시행되었다. 납과 카드뮴에 노출되지 않을 것으로 추정되는 남녀 10명을 대상으로, 비자극성 전타액을 채취한 후, 각 시료를 6개의 시편으로 나누어서 원심분리를 시행한 후 3가지 전처리를 하는 경우와 원심분리를 시행하지 않고 3가지 전처리를 하는 경우로 구분하였다. 타액의 전처리법은 simple dilution by electrolyte, simple dilution by HCl, acid digestion by nitric acid 등 3가지를 각각 시행했으며, ASV법으로 타액 내 납과 카드뮴의 농도를 분석하였다. 실험결과는 다음과 같다.

1. '타액 시료의 전처리 방법에 따른 타액내 납의 평균 농도'를 살펴보면, 원심분리 시행군이 원심분리 미시행군에 비하여 평균농도가 유의성 있게 높았다.
2. 타액내 납의 검출에 있어서, 단순히 전해질로 희석만 한 경우보다 염산이나 질산으로 전처리를 시행한 경우에 유의성 있게 더 높은 농도를 나타내었다.
3. '타액 시료의 전처리 방법에 따른 타액내 카드뮴의 평균 농도'를 살펴보면, 원심분리 시행군이 원심분리 미시행군에 비하여 평균농도가 유의성 있게 높았다.
4. 타액내 카드뮴의 검출에 있어서, 단순히 전해질로 희석만 한 경우보다 염산이나 질산으로 전처리를 시행한 경우가 더 높은 농도를 나타내었으나, 유의한 차이는 아니었다.

주제어: 양극 벗김 전압전류법 (Anodic stripping voltammetry: ASV), 인체 타액, 납, 카드뮴, 전처리 (pre-treatment)

## I. 서 론

산업혁명 이래로 화석연료의 사용은 대기 환경의 상태를 악화시키고 있으며, 특히 대기중 중금속 농도의 증가로 인해 산업현장 종사자뿐만 아니라 일반 국

민에게까지 중금속 중독의 위험에 노출되고 있는 실정이다. 여러 중금속 중 납 (Pb)과 카드뮴 (Cd)은, 다른 중금속에 비하여 중독시의 피해 및 후유증이 크고, 비교적 산업현장 및 배기가스 등 주위 생활 환경에서 쉽게 접할 수 있는 바 그 심각성이 더욱 크다고 사료된다. 국내에는 과거에 이미 상당수의 공장 노동자들이 납중독으로 인한 피해를 호소한 바 있고, 실제로 여러 산업의학 전문병원에서 납중독 환자들의 치료와 재활이 이루어지고 있는 실정이다.

생체 모니터링법 (Biological monitoring, or bio-monitoring)은, 중금속을 포함한 여러 종류의 화학물질에 대한 인체의 직업적, 환경적 노출 (occupational and environmental exposure)의 위험성을 정량적으로 평가하는 중요한 수단으로 사용되고 있는데, 납과 카드뮴 등의 중금속을 검출할 때는,

교신저자 : 김영준

강원도 강릉시 지변동 강릉대학로 120

강릉대학교 치과대학

전화: 033-640-2754

Fax: 033-642-6410

E-mail: alcor3@kangnung.ac.kr

원고접수일 : 2007-05-09

심사완료일 : 2007-08-02

\* 이 논문은 2003년도 강릉대학교 학술연구조성비 지원에 의하여 수행되었음.

주로 혈액을 이용한 방법들이 사용되었다. 이는 가장 최근에 흡수된 인체 내 납의 정량화가 혈액 분석을 통하여 가장 신뢰성 있게 이루어지기 때문이다. 따라서, 현재까지 생체 내 중금속 오염을 나타내는 지수로써 널리 쓰이고 있다.<sup>1,2)</sup>

그러나, 혈액은, 생체 모니터링용 시료로서 많은 단점을 가지고 있는데, 채취과정이 침습적이어서 피검자에게 많은 고통을 줄 수 있으며, 채취과정이 외부환경에 부적절하게 노출될 가능성이 크고, 감염이나 지혈 등의 부작용이 수반될 수 있다.<sup>1,2)</sup> 그러므로, 피검자에 대한 반복적인 모니터링에는 부적절하다고 할 수 있다.

반면, 타액은 피검자에게 최소의 스트레스만을 부여하며, 충분한 양을 확보할 수 있으며, 수시로 반복적인 모니터링이 가능하며, 채취방법을 피검자가 잘 숙지하면 의료 전문가의 도움 없이도 채취가 가능하다. 타액은 혈액에 비하여 검출하고자 하는 물질의 농도가 낮게 분포하여, 상대적으로 정량화하기 어려운 단점이 있으나, 대량의 피검자를 대상으로 하는 모니터링을 실시할 경우 혈액보다 상대적으로 경제적인 비용과 시간으로 분석이 가능하리라 사료된다.<sup>1,2)</sup> 또한, 혈액과 마찬가지로, 타액내의 납 농도는 최근에 노출된 납의 양과 연관성이 있어서, 작업환경이 납에 노출되기 쉬운 근로자나 납 성분이 들어있는 페인트에 직접 접촉한 어린이들을 대상으로 비침습적이고 손쉽게 모니터링할 수 있는 장점이 있다.<sup>3,4,5)</sup>

이러한 타액의 장점을 바탕으로, 전세계적으로 타액 시료를 이용한 중금속의 검출에 대하여 다양한 연구가 이루어져 왔다. 그러나, 아직 국내에서는 타액내의 중금속에 대한 생체 모니터링법에 대한 연구가 전무한 실정이며, 그나마도 대부분 혈액 시료를 이용한 연구들이 이루어져왔다. 그러므로, 한국인의 타액을 대상으로 하는 중금속의 검출에 관한 연구가 시급한 실정이라 할 수 있다.

한편, 미량원소 분석법의 급격한 발달로 말미암아, 타액내 중금속에 대한 검출법이 속속 진보하고 있는 실정인데, 타액내 중금속의 검출에 쓰이는 대표적인 분석법으로는, 양극 벗김 전압전류법 (Anodic stripping voltammetry: ASV), 유도 결합 플라즈마 질량분석법(Inductively coupled plasma mass spectrometry: ICP-MS), 유도 결합 플라즈마 분광법(Inductively couple atomic emission spectrometry: ICP-AES), 원자 흡수 분광 광도법(Atomic absorption spectroscopy: AAS) 등을 들 수 있다. 각각의 분석법

은 고유한 특성과 장단점을 지니고 있어서, 상호보완적으로 활용되고 있다.

이러한 분석법들을 시행할 때, 해당 시료에 대한 전처리 과정 (pre-treatment procedure)이 필요한데, 이러한 과정을 통해서 시편 내의 불순물을 제거하여 검출능력을 높일 수 있게 된다. 그러나, 분석 결과에 지대한 영향을 미칠 수 있는 타액 시편에 대한 전처리 과정에 관한 구체적인 연구가 아직까지 없었던 바, 이에 본 연구자는 최근에 미량 금속 분석법으로 각광받고 있는 ASV법을 이용하여, 중금속인 납과 카드뮴을 대상으로, 현재 사용되고 있는 유력한 전처리 방법들을 비교하는 예비 연구를 시행하여, 타액 시편에 대한 가장 적절한 전처리 방법을 찾고자 하였다.

## II. 연구대상 및 방법

### 1. 연구대상

연구대상은 강릉대학교 치과병원 직원 및 치과대학 학생 10명 (남: 6명, 여: 4명)으로, 납과 카드뮴 등의 중금속에 노출되지 않을 것으로 추정되는 피검자들을 선발하였다. (평균연령: 28.6 2.22년)

### 2. 연구 방법

#### 1) 타액 검체의 채취<sup>2,6,7,8,9)</sup>

비자극성 전타액의 채취는 오전 9:00에서 12:00 사이에 시행되었으며, 타액채취 최소 2시간 전부터 물을 제외한 음식물의 섭취, 양치질 및 흡연을 삼가도록 하였다.

음식 잔사 또는 담배, 그리고 공기부유물로부터의 오염 가능성을 최소화하기 위하여, 각 피검자는 타액 채취 전에 총 2회씩 구강세척을 시행하였다. 두 번에 걸쳐 증류수 (distilled water) 20 ml로 구강 내를 60 초 동안 철저히 세척하도록 하였다.

비자극성 전타액은 spitting 법 (입안에 있는 타액을 모두 삼킨 후 입술을 다물고 입안에 타액을 모은 다음 분당 1-2회 정도 용기에 뱉는 방법)을 이용하여, 대략 15분간 6 ml를 채취한 후 실험에 사용하였다.

타액의 채취에 쓰인 용기는 15 ml의 Pb-free polypropylene tube를 사용하였고, 채취 중 오염되었다고 판단되는 검체는 제외하였다.

실험에 쓰인 타액 시료는, 채취 즉시, vortexing을 시행한 후, 1 ml씩 6개의 시편으로 나누었다. 이중 3

개의 시편은 원심분리 (12,000 rpm for 5 minutes)를 시행하여, 세포 잔사를 제거한 후, -20°C에서 냉동 보관하였고, 나머지 3개의 시편은 원심분리를 시행하지 않고 -20°C에서 냉동 보관하였다.

2) 타액의 전처리 과정<sup>1,2,6,7,8,9)</sup>

원심분리를 시행하지 않은 각각 3개의 시편에 대하여 다음의 3가지 전처리법을 시행하였고, 원심분리를 시행한 3개의 시편에 대해서도 동일한 3가지 전처리법을 시행하였다.

(1) Simple dilution method by addition of electrolytes  
타액 샘플 0.5 ml에 chlor-acetate electrolyte를 첨가하여 총 10 ml 용액으로 만든다.

(2) Simple dilution method by addition of HCl  
타액샘플 0.5 ml에 0.625 M HCl를 2 ml 가한 후, chlor-acetate electrolyte를 넣어 10 ml 용액을 만든다.

(3) Acid digestion by nitric acid  
타액 샘플 0.5 ml에 초순수 질산 5 ml를 첨가한다. 이 용기를 밤새 주의를 기울여서 따뜻하게 한다. 이 용기에 1 ml의 농축 과염소산(Perchloric acid)을 첨가하고 이 용액이 증발될 때까지 천천히 가열한다. 이후 chlor-acetate electrolyte를 넣어 10 ml 용액을 만든다.

3) 타액내 납과 카드뮴의 검출<sup>10)</sup>

타액내 납과 카드뮴의 검출에는, ASV법으로 미량 원소를 검출하는 분석기기 TEA 3000 V (MTI Instrument, Perth, Australia)를 사용하였다 먼저, electrolyte 5 ml과 시편을 넣지 않고 동일한 방법으로 전처리된 blank액 5 ml을 cell에 넣은 후 blank값을 산출한다. blank를 산정한 그 용액에 바로 Pb와 Cd standard 10 ppm 용액 100 ml(100 ppb)를 첨가한 후 기준값을 구한다. 위 과정이 끝나면 cell을 배수하고 충분히 세척한 후 전처리 된 시편을 적용한다. 시료당 2번 분석하여 그 평균농도를 구한다.

4) 통계 분석

원심분리 및 세가지 전처리법을 통해 얻은 타액내 납과 카드뮴 농도의 측정값들은 반복 측정이 있는 이원 분산분석(repeated measured two-way ANOVA)

을 사용하여 통계 분석하였다. 모든 통계처리는 'SPSS 12.0 for Window' 프로그램을 이용하였다.

III. 연구결과

먼저 '타액 시료의 전처리 방법에 따른 타액내 납의 평균 농도'를 살펴보면, 원심분리를 시행한 후 전처리한 시편들이 원심분리를 시행하지 않고 전처리한 시편들에 비하여 평균농도가 유의성 있게 높았으며 (p=0.001), 단순히 전해질로 희석한 경우보다 염산이나 질산으로 전처리를 시행한 경우에 유의성 있게 더 높은 농도로 검출되었다(p=0.038). (Table. 1, Table 2, Fig. 1, Fig. 2)

Table 1. Mean concentration of Pb in saliva, after centrifugation (unit: ppb)

|              | Non-centrifugation | Centrifugation |
|--------------|--------------------|----------------|
| Total (n=30) | 30.94              | 41.04**        |
| A (n=10)     | 25.64              | 36.75          |
| B (n=10)     | 32.61*             | 41.36*         |
| C (n=10)     | 34.57*             | 45.01*         |

A: Simple dilution method by electrolytes

B: Simple dilution method by HCl

C: Acid digestion by nitric acid

\*: p<0.05

\*\* : p<0.01

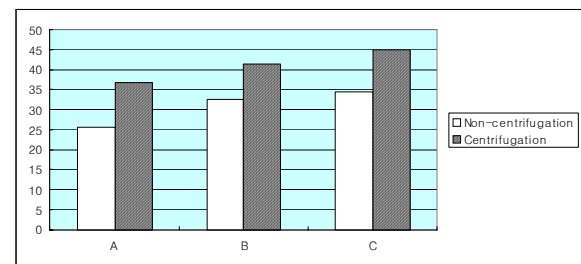


Fig. 1. Mean concentration of Pb in saliva, after centrifugation (unit: ppb)

A: Simple dilution method by electrolytes

B: Simple dilution method by HCl

C: Acid digestion by nitric acid

Table 2. Mean concentration of Pb in saliva, after various pre-treatments (unit: ppb)

|          | A    | B    | C    | D    | E    | F    |
|----------|------|------|------|------|------|------|
| Male 1   | 12.3 | 41.2 | 23.0 | 47.7 | 53.7 | 56.4 |
| Male 2   | 7.9  | 23.6 | 60.7 | 39.4 | 47.2 | 44.8 |
| Male 3   | 45.4 | 33.5 | 40.7 | 35.7 | 39.7 | 42.5 |
| Male 4   | 20.4 | 32.6 | 26.9 | 50.5 | 42.8 | 49.3 |
| Male 5   | 8.7  | 39.5 | 17.8 | 17.7 | 31.9 | 40.0 |
| Male 6   | 25.9 | 14.3 | 23.1 | 28.2 | 31.2 | 37.1 |
| Female 1 | 26.3 | 37.2 | 32.7 | 40.8 | 44.0 | 52.4 |
| Female 2 | 27.2 | 35.1 | 48.9 | 46.9 | 43.2 | 40.8 |
| Female 3 | 45.6 | 44.6 | 45.7 | 22.2 | 38.9 | 40.1 |
| Female 4 | 36.9 | 24.7 | 26.4 | 38.4 | 41.2 | 47.8 |
| Pb-M     | 25.6 | 32.6 | 34.6 | 36.7 | 41.4 | 45.1 |
| Pb-SD    | 13.8 | 9.28 | 13.9 | 11   | 6.67 | 6.21 |

A: Non-centrifugation & simple dilution method by electrolytes  
 B: Non-centrifugation & Simple dilution method by HCl  
 C: Non-centrifugation & Acid digestion by nitric acid  
 D: Centrifugation & Simple dilution method by electrolytes  
 E: Centrifugation & Simple dilution method by HCl  
 F: Centrifugation & Acid digestion by nitric acid  
 Pb-M : Mean concentration of Pb in saliva  
 Pb-SD : Standard deviation of Pb concentration

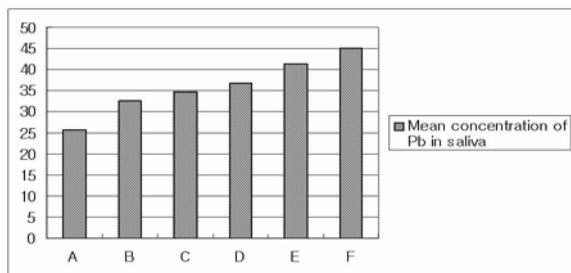


Fig. 2. Mean concentration of Pb in saliva, after various pre-treatments (unit: ppb)

A: Non-centrifugation & simple dilution method by electrolytes  
 B: Non-centrifugation & Simple dilution method by HCl  
 C: Non-centrifugation & Acid digestion by nitric acid  
 D: Centrifugation & Simple dilution method by electrolytes  
 E: Centrifugation & Simple dilution method by HCl  
 F: Centrifugation & Acid digestion by nitric acid

Table 3. Mean concentration of Cd in saliva, after centrifugation (unit: ppb)

|              | Non-centrifugation | Centrifugation |
|--------------|--------------------|----------------|
| Total (n=30) | 2.49               | 3.57**         |
| A (n=10)     | 2.20               | 3.17           |
| B (n=10)     | 2.79               | 3.68           |
| C (n=10)     | 2.49               | 3.86           |

A: Simple dilution method by electrolytes  
 B: Simple dilution method by HCl  
 C: Acid digestion by nitric acid

\*\* : p<0.01

그 다음으로, ‘타액 시료의 전처리 방법에 따른 타액내 카드뮴의 평균 농도’를 살펴보면, 원심분리를 시행한 후 전처리한 시편들이 원심분리를 시행하지 않고 전처리한 시편들에 비하여 평균농도가 유의성 있게 높았으며(p=0.004), 단순히 전해질로 희석한 경우

Table 4. Mean concentration of Cd in saliva, after various pre-treatments (unit: ppb)

|          | A   | B   | C   | D   | E   | F   |
|----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Male 1   | 0.6 | 2.7 | 1.9 | 2.3 | 3.4 | 3.4 |
| Male 2   | 1.1 | 3.5 | 2.8 | 3.1 | 3.6 | 3.4 |
| Male 3   | 1.7 | 1.0 | 0.6 | 2.7 | 4.4 | 5.5 |
| Male 4   | 1.5 | 2.2 | 2.4 | 2.6 | 4.7 | 3.7 |
| Male 5   | 8.0 | 3.5 | 2.6 | 5.9 | 4.1 | 4.5 |
| Male 6   | 3.0 | 0.8 | 1.6 | 1.8 | 2.0 | 2.6 |
| Female 1 | 0.7 | 2.8 | 1.9 | 2.6 | 2.1 | 3.3 |
| Female 2 | 1.4 | 2.1 | 1.5 | 2.6 | 4.7 | 3.8 |
| Female 3 | 1.5 | 4.9 | 4.4 | 4.9 | 3.9 | 4.5 |
| Female 4 | 2.5 | 4.4 | 5.2 | 3.2 | 3.9 | 3.9 |
| Cd-M     | 2.2 | 2.8 | 2.5 | 3.2 | 3.7 | 3.9 |
| Cd-SD    | 2.2 | 1.3 | 1.4 | 1.3 | 1.0 | 0.8 |

A: Non-centrifugation & simple dilution method by electrolytes  
 B: Non-centrifugation & Simple dilution method by HCl  
 C: Non-centrifugation & Acid digestion by nitric acid  
 D: Centrifugation & Simple dilution method by electrolytes

E: Centrifugation & Simple dilution method by HCl  
 F: Centrifugation & Acid digestion by nitric acid  
 Cd-M : Mean concentration of Cd in saliva  
 Cd-SD : Standard deviation of Cd concentration

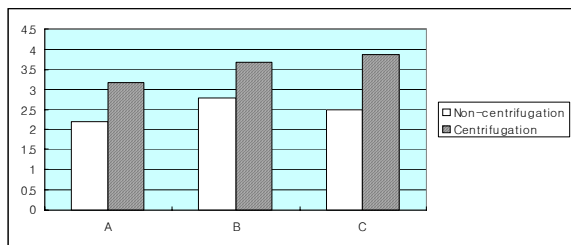


Fig. 3. Mean concentration of Cd in saliva, after centrifugation (unit: ppb)  
 A: Simple dilution method by electrolytes  
 B: Simple dilution method by HCl  
 C: Acid digestion by nitric acid

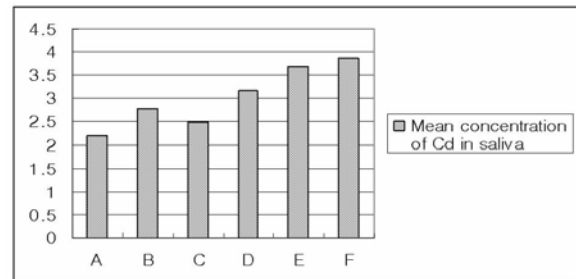


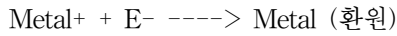
Fig. 4. Mean concentration of Cd in saliva, after various pre-treatments (unit: ppb)  
 A: Non-centrifugation & simple dilution method by electrolytes  
 B: Non-centrifugation & Simple dilution method by HCl  
 C: Non-centrifugation & Acid digestion by nitric acid  
 D: Centrifugation & Simple dilution method by electrolytes  
 E: Centrifugation & Simple dilution method by HCl  
 F: Centrifugation & Acid digestion by nitric acid

보다 염산이나 질산으로 전처리를 시행한 경우가 더 높은 농도를 나타내었으나 유의한 차이는 아니었다. (Table 3, Table 4, Fig. 3, Fig. 4)

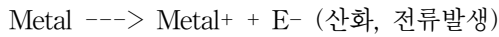
IV. 총괄 및 고찰

양극 벗김 전압전류법(anodic stripping voltammetry: ASV)은, 전기화학법(electrochemical method)을 이용하여 전해질 내의 극미량으로 존재하는 금속이온의 농도를 전기도금방식으로 분석하는 방법이다.

이와 같은 전압전류법은 두 단계의 과정을 이용하여 금속이온의 농도를 측정하는데, 첫 단계는 각각의 금속환원전위보다 더 음극인 전위에서 전극의 전압을 보유함으로써 금속이 도금되는 단계이다(plating step). 용액 속의 금속이온이 전극표면에 환원이 진행되면 다음과 같은 전기화학적 반응이 나타나게 된다.



두 번째 단계는 용탈 단계 (stripping step)로서, 전압이 양의 방향으로 이동하게 되며 그 전류가 측정된다. 여기서 측정된 전류는, 전극표면에서 금속의 산화와 연관되어서 금속이 이온화되어 용액 속으로 되돌아가면서 발생하는 전류의 양이 측정되는 것이다.



위에서 설명한 반응을 일으키기 위한 산화환원전위에 관련된 전압은 각각의 금속이 특징적이며, 그 전류값은 용액에서의 원래 농도와 비례한다. 그러므로 전극이 일정하게 특정한 전압을 유지하고 그 전원에서 산화 및 환원이 될 수 있는 금속물질은 함유한 시료용액이 존재하면 각각의 함유물질은 전기에 반응하여 각각의 농도에 비례한 전류가 결과값으로 나타나게 될 것이며, 이러한 원리를 이용하여 특정 금속의 농도를 검출할 수 있게 된다.<sup>10)</sup>

일반적으로 널리 사용되고 있는 AAS법은 고가의 비용이 드는 까다로운 전처리 과정이 필요하여 전문성이 요구되며, 장비의 가격이 고가이며, 장비의 크기가 대형이어서 장비의 이동이 용이하지 않고, 여러 종류의 금속을 동시에 검출하지 못하는 단점이 있다.<sup>9,11)</sup> 한편, ICP-MS법은 가장 이상적인 분석기기로 인정받고 있고, 검출한계 또한 1-50 ppt로서 매우 우수하다. 그러나, 기기의 가격이 초고가이며 운영비용 역시 많이 소요되어 전문적인 연구소에서만 이용 가능한 단점이 있다.<sup>3,9)</sup>

그러나, ASV법은 금속에 있어서 산화환원전위가

일정함을 이용하여 중금속의 정성과 정량분석을 행하는 방법으로서 지금까지 많이 사용되어온 ICP-MS 법이나 AAS법에 비하여 많은 장점을 가지고 있다. 간단히 몇 가지만 서술하면 다음과 같다.<sup>10,12,13)</sup>

첫째, 기계적으로 안정된 분석조건만 갖춰 놓으면 거의 완벽한 재현성을 얻을 수 있다.

둘째, 동시에 여러 중금속에 대한 다중 분석이 가능하다.

셋째, 기계적 유지비가 거의 들지 않는다.

넷째, 전처리 이후 짧은 시간 내에 다수의 시료분석이 가능하다.

다섯째, 까다로운 전처리 과정을 요구하지 않는다.

여섯째, 장비가 비교적 간단하여, 필요한 경우 현장측정이 가능하다.

따라서, 이번 연구에서는, 다수의 검체를 대상으로 다수의 중금속에 대하여 반복적인 모니터링이 가능한 장비의 선택에 초점을 맞추고, 다른 기기에 비하여 이런 면에서 유리한 ASV법을 선택하여 실험하게 되었다. 또한, 혈액내 납의 검출에 있어서 ASV법과 AAS법을 비교한 실험에서 ASV법이 AAS법과 유사한 검출능력을 보인 점,<sup>14,15)</sup> 그리고 ASV법에 의하여 측정할 수 있는 타액내 납의 농도가 ICP-MS법에 의하여 검출되는 농도의 약 75-85% 정도라는 연구결과에 입각하여 ASV법을 타액내 중금속 농도를 정량화 하는데 사용할 수 있으리라 판단하였다.<sup>1)</sup> ICP-MS법에 비하여 떨어지는 ASV법의 검출 능력을 높이기 위한 방법으로, 초음파(ultrasound)를 사용한 연구들이 보고되고 있다.<sup>16,17,18)</sup> 그러나, 초음파를 적용하기 위해서는 별도의 장비를 장착하여 기기를 재구성해야 하는 어려움이 있어서, 이번 실험에서는 초음파의 적용 없이 일반적인 ASV법을 사용하였다.

아직까지는 ASV법을 사용하여 타액내 납의 농도를 측정하는 연구는 거의 전무한 실정이다. 지금까지의 타액을 이용한 연구결과들에 의하면,<sup>2,4,6,8,9,19,20,21)</sup> 타액내 납의 농도는 일반적으로 1-50 ppb 정도로 알려져 있는데, 이번 실험결과는 그 범위에 포함되어 있어서, 이전 실험 결과들과 어느 정도는 부합되는 것으로 사료된다.

카드뮴의 경우도 타액내 농도가 거의 알려져 있지 않은데, 혈액내 카드뮴의 농도를 측정한 경우 등을 포함한 몇몇 연구결과들에 의거하여 정상범위를 추정해보면,<sup>6,8,9,20,22,23,24)</sup> 대략 0.1-4 ppb의 농도를 나타낼 것으로 사료된다. 이번 연구의 결과는 이러한 카드뮴

농도의 추정 범위에 속하므로 이전 실험결과들과 어느 정도 부합된다고 할 수 있겠다.

이번 실험결과는 위에서 언급한 정상 검출 범위 내에 포함되기는 하였지만, 최근에 이루어진 몇몇 다른 연구자들의 실험결과보다는<sup>9,8,19)</sup> 다소 높은 수치를 나타냈다. 이러한 결과의 원인을 추론해보면, 타액 채취 과정에서 발생할 수 있는 타액의 오염, 전처리 과정에서 발생할 수 있는 시편의 오염, 기기 측정시의 오차, 분석기기의 검출한계(detection limit), 타액 검체 시편의 불충분한 확보, 개개인의 중금속 축적 정도 차이 등이 실험 결과에 영향을 주었을 것으로 생각된다. 특히 섭취하는 음식의 종류나 양, 생활 중에서 노출되는 중금속의 양, 주위 도로의 자동차 통행량의 차이 등은 개인별로 차이가 있을 것이므로 향후 연구에서는 이러한 요소를 충분히 고려해야 하겠다. 또한, 현재까지의 선학들의 연구에 의하면, ICP-MS법의 검출능이 가장 우수한 것으로 알려져 있는 만큼, 향후 ICP-MS법을 통하여 타액내 중금속의 농도를 측정해 보는 연구가 필요할 것으로 생각된다.

한편, 실험 결과에서 원심분리 시행군이 원심분리 미시행군에 비하여 우수한 검출능을 나타내었다. *in vitro* 실험에 따르면, 타액내 납의 95% 이상이, 타액내 단백질 중에서 아밀라아제(amylase)와 같은 50,000 amu 이상의 고분자 물질(high molecular molecules)에 부착되어 있는 것으로 밝혀졌다.<sup>1,12)</sup> 따라서 원심분리를 통해서 타액내 단백질을 다수를 분리해내고, 상층액만을 분리하여 사용하는 것이 시편 분석과정을 방해하는 불순물의 양을 감소시킬 수 있을 것이라 추론하였는데, 이와 같은 추론을 이번 실험결과가 뒷받침해 주었다.

또한, 분석 시행 전에 vortexing하는 과정도 중요하다고 생각되는데, 그 이유는 타액시료내의 중금속 이온이 균일하게 분포된 상태에서 농도를 측정하는 것이 실험의 오차를 줄일 수 있기 때문이다.

이번 실험결과에서는, 산으로 전처리한 시료가, 산으로 전처리하지 않은 시료에 비해 유의성 있는 차이를 보여주었다. 따라서, 산을 이용한 전처리법이 타액내 납과 카드뮴의 분석에 있어서 가장 중요한 과정이라고 추론할 수 있었다. 다만, 산을 이용한 전처리 과정에서 주의해야 할 점이 있는데, 사용할 산의 선택에 있어서 염산이나 질산 어느 것을 사용해도 무방하나 시료를 녹일 수 있는 최소량을 사용하여, 분석시 나타날 수 있는 산에 의한 영향력을 최소화하는 것이 바람직하다. 그리고 사용하는 산의 등급을 중금속 분석

용 등급 이상으로 반드시 사용하여야 하며, 그 등급 이상이라도 다량의 납을 함유하고 있을 가능성이 있기 때문에 반드시 실험시에 blank값을 먼저 설정해야 하겠다. 현재 일반적으로 실험에 쓰이는 염산의 경우, 약 20ppb 정도의 납을 포함하고 있으므로 실험시엔 초순도 강산을 사용하여 실험오차를 최소화 하여야 한다.<sup>10)</sup>

이번 연구로, 타액을 이용한 생체 모니터링 검사가 향후 중금속 오염 실태를 조사하는 데에 있어서, 혈액 검사와 더불어 중요한 진단법으로 사용될 가능성이 있음을 확인하였다. 즉, 타액검사는 반복적인 검사가 요구되는 경우에도 혈액에 비하여 비교적 간단한 절차로서 진단이 이루어지는 장점이 있으므로, 혈액검사의 상당수를 대체할 수 있고, 또한 혈액검사와 상호 보완적인 역할이 이루어져서, 보다 정확한 중금속 오염 정도를 측정하는 데에 기여할 수 있을 것이다.

국내에서 한국인을 대상으로 한 타액 내 중금속 검출에 대한 연구가 없는 실정에서, 본 연구의 결과는 치의학 뿐만 아니라 산업의학 및 환경의학적 측면에서 중요한 의미가 있다고 사료된다. 다만, 검체 시료가 충분히 확보되지 않아서 남녀간의 차이를 살펴볼 수 없었던 것은 아쉬운 점이며, 후속 연구를 통하여 보완해야 할 것이다. 또한 향후 연구에서는 ASV 이외에 다른 분석법들을 통한 연구를 실시하여 보다 진일보된 생체 모니터링법을 확립하는데 기여해야 할 것이다.

## V. 결 론

본 연구는, 양극 벗김 전압전류법 (Anodic stripping voltammetry: ASV)을 이용하여, 전처리 과정에 따른 인체 타액내 납(Pb)과 카드뮴(Cd)의 검출 농도를 비교하기 위하여 시행되었다. 납과 카드뮴 등의 중금속에 노출되지 않을 것으로 추정되는 남녀 10명을 대상으로, 비자극성 전타액을 채취한 후, 각 시료에 원심분리 및 3가지 전처리를 시행하였다. 타액의 전처리법은 simple dilution by electrolyte, simple dilution by HCl, acid digestion by nitric acid 등 3가지를 각각 시행했으며, ASV법으로 타액 내 납과 카드뮴의 농도를 분석하였다. 실험결과는 다음과 같다.

1. '타액 시료의 전처리 방법에 따른 타액내 납의 평균 농도'를 살펴보면, 원심분리 시행군이 원심분리 미시행군에 비하여 평균농도가 유의성 있게 높았

- 다. ( $p=0.001$ )
2. 타액내 납의 검출에 있어서, 단순히 전해질로 희석만 한 경우보다 염산이나 질산으로 전처리를 시행한 경우에 유의성 있게 더 높은 농도를 나타내었다. ( $p=0.038$ )
  3. '타액 시료의 전처리 방법에 따른 타액내 카드뮴의 평균 농도'를 살펴보면, 원심분리 시행군이 원심분리 미시행군에 비하여 평균농도가 유의성 있게 높았다. ( $p=0.004$ )
  4. 타액내 카드뮴의 검출에 있어서, 단순히 전해질로 희석만 한 경우보다 염산이나 질산으로 전처리를 시행한 경우가 더 높은 농도를 나타내었으나, 유의한 차이는 아니었다.

#### REFERENCES

1. Timchalk C, Poet TS, Lin Y, Weitz KK, Zhao R, Thrall, KD. Development of an integrated microanalytical system for analysis of lead in saliva and linkage to a physiologically based pharmacokinetic model describing lead saliva secretion. *AIHAJ* 2001;62:295-302.
2. Wilhelm M, Pesch A, Rostek U, Begerow J, Schmitz N, Idel H, Ranft U. Concentrations of lead in blood, hair and saliva of German children living in three different areas of traffic density. *Sci Total Environ* 2002;297:109-118.
3. West CE, Hardcastle JL, Compton RG. Sonoelectrical determination of lead in saliva. *Electroanalysis* 2002;14:1470-1478.
4. P'an AYS. Lead level in saliva and in blood. *J Toxicol Environ Health* 1981;7:273-280.
5. Brodeur J, Jacasse Y, Talbot D. Influence of removal from occupational lead exposure on blood and saliva lead concentrations. *Toxicol Lett* 1983;19:195-199.
6. Gonzalez M, Banderas JA, Baez A, Belmont R. Salivary lead and cadmium in a young population residing in Mexico city. *Toxicol Lett* 1997;93:55-64.
7. Vaughan M-A, Baines AD, Templeton DM. Multielement analysis of biological samples by ICP-MS spectrometry. II. Rapid survey method for profiling trace elements in body fluids. *Clin Chem* 1991;37:210-215.
8. Menegario AA, Packer AP, Gine MF. Determination of Ba, Cd, Cu, Pb and Zn in saliva by isotope dilution direct injection inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analyst* 2001;126:1363-1366.
9. Hardcastle JL, West CE, Compton RG. The membrane free sonoelectroanalytical determination of trace levels of lead and cadmium in human saliva. *Analyst* 2002;127:1495-1501.
10. 하정철. Trace element analyzer(TEA)를 이용한 식품내 중금속류(Pb, Cd, As) 고감도 측정기술에 관한 연구. 서울, 1997, 한국소비자보호원.
11. Feldman BJ, Osterloh JD, Hata BH, D'Alessandro A. Determination of lead in blood by square wave anodic stripping voltammetry at a carbon disk ultramicroelectrode. *Anal Chem* 1994;66:1983-1987.
12. Lin Y, Zhao R, Thrall KD, Timchalk C, Bennett WD, Matson DW. Integration of microfluids/electrochemical systems for trace metal analysis by stripping voltammetry. *Proc Soc Optical Engin (SPIE)* 1999;3877:248-256.
13. Wang J. Stripping analysis of trace metals in human body fluids. *J Electroanal Chem* 1982;139:225-232.
14. Bannon DI, Chisolm JJ. Anodic stripping voltammetry compared with graphite furnace atomic absorption spectrophotometry for blood lead analysis. *Clinical chemistry* 2001;47:1703-1704.
15. Lee SW, Meranger, JC. Direct methods for the determination of lead in whole blood by anodic stripping voltammetry. *Am J Med Tech* 1980;46:853-857.
16. Hardcastle JL, Murcott GG, Compton RG. Sono-electroanalysis: Ultrasonically facilitated liberation and determination of copper in whole blood. *Electroanalysis* 2000;12:559-563.
17. Hardcastle JL, Compton RG. The electroanalytical detection and determination of copper in blood: ultrasonic enhanced solvent extraction coupled with electrochemical detection by sono-square-wave stripping voltammetry analysis. *Electroanalysis* 2002;14:753-759.
18. Hardcastle JL, Compton RG. Sonoelectrical determination of heavy metal in fish gill mucous. *Electroanalysis* 2001;13:89-93.
19. Nriagu J, Burt B, Linder A, Ismail A, Sohn W. Lead levels in blood and saliva in low-income population of Detroit, Michigan. *Int J Hyg Environ Health* 2006;209:109-121.
20. Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Fundamentals of clinical chemistry*. 4th ed, USA, 1996, W. B. Saunders.
21. Royce SE, Needleman HL. Case studies in environmental medicine: Lead toxicity. USA, 1990, US public health survey.
22. Moreno MA, Martin C, Vinage F, Ostapczuk P. Trace



- element levels in whole blood samples from residents of the city Badajoz, Spain. The science of total environment 1999;229:209-215.
23. White MA, Ohagan SA, Wright AL, Wilson HK. The measurement of salivary cadmium by electrothermal atomic absorption spectrophotometry and its use as a biological indicator of occupational exposure. J Exposure anal Environ Epidemiol 1992;2:195-206.
24. Iyengar V, Woittiez J. Trace element in human clinical specimens: evaluation of literature data to identify reference values. Clin Chem 1988;34:474-481.

---

- ABSTRACT -

Electrochemical Detection of Lead and Cadmium in Human Saliva by Anodic Stripping  
Voltammetry (ASV) Analysis: A Pilot Study

Young-Jun Kim, D.D.S.,M.S.D., Cheul Kim, D.D.S.,M.S.D.

*Department of Oral Medicine & Diagnosis & Research Institute of Oral Science,  
College of Dentistry, Kangnung National University*

The aim of this study was to evaluate the differences of salivary lead (Pb) and cadmium (Cd) concentrations, using ASV analysis, after various pre-treatment procedures. 10 unstimulated whole saliva samples of non-exposed subjects to Pb and Cd were collected. Each sample was divided into 6 aliquots and centrifugation was performed in only 3 aliquots. After centrifugation, 3 different types of pre-treatment procedures were carried out. Also, these pre-treatment procedures were carried out for another 3 aliquots, without centrifugation. Pre-treated aliquots were analyzed electrochemically, by ASV. The results are as follows:

1. Mean concentration of Pb in saliva after centrifugation was significantly higher than that of non-centrifugation.
2. In the detection sensitivity of Pb in saliva, those of simple dilution technique by HCl and acid digestion technique by nitric acid were significantly higher than that of simple dilution technique by electrolyte.
3. Mean concentration of Cd in saliva after centrifugation was significantly higher than that of non-centrifugation.
4. In the detection sensitivity of Cd in saliva, those of simple dilution technique by HCl and acid digestion technique by nitric acid were higher than that of simple dilution technique by electrolyte. But, there were no significant differences between them.

Key words: anodic stripping voltammetry (ASV), human saliva, lead, cadmium, pre-treatment

---