수은의 생물학적 노출 평가 표준 시료 개발

이미영·유희선

산업재해예방
안전보건공단
산업안전보건연구원

제 출 문

산업안전보건연구원장 귀하

본 보고서를 “수은의 생물학적 노출 평가 표준 시료 개발”의 최종 보고서로 제출합니다.

2023년 11 월

연구진

연구기관 : **산업안전보건연구원**

연구책임자 : 이미영 (선임연구위원, 직업건강연구실)

연 구 원 : 유희선 (연구원, 직업건강연구실)

요 약 문

● 연 구 기 간 2023년 01월 ~ 2023년 11월
● 핵 심 단 어 혈액 중 수은, 생물학적 노출평가
● 연구과제명 수은의 생물학적 노출 평가 표준 시료 개발

1. 연구배경

산업안전보건연구원은 유해화학물질 노출 평가를 위한 생물학적 노출 평가 항목의 분석에 활용할 수 있는 표준시료 개발 연구를 2015년부터 추진하였고 연구 결과를 특수건강진단기관 분석정도관리 항목 확대에 활용하였다.

이 연구는 산업안전보건법 시행규칙과 근로자건강진단실무지침에 생물학적 노출평가항목으로 규정한 분석 항목 중 금속류 2차 항목인 혈액 중 수은 분석을 위한 표준시료 제조 방법과 분석 신뢰도를 제시함을 목적으로 하였다.

2. 주요 연구내용

특수건강진단 분석정도관리 혈액 시료 조제용 중금속 미첨가 혈액에 수은 표준용액을 희석하여 혈액 중 수은 노출기준인 15 μg/L를 포함한 3가지 농도(1/2, 1, 2배)의 표준시료를 조제하였다.

분석법의 신뢰도를 확인하기 위하여 분석 정밀도와 정확도를 확인하였고, 검출한계를 확인하여 노출기준의 혈액 중 수은을 분석이 가능함을 확

인하였다.

조제한 시료의 실용성을 검토하기 위하여 분석 시료의 균질성과 안정성을 조사하였다. 시료의 안정성은 시료를 상온, 냉장, 냉동, 초저온냉동의 4개 조건에서 7일, 1개월 경과 후의 농도를 환원기화수은분석법으로 분석하여 조사하였다.

또한, 근로자건강진단실무지침 중 수은 노출 평가를 위한 1차 생물학적 노출지표인 소변 중 수은과 2차 생물학적 노출지표인 혈액 중 수은의 노출 평가 규정 현황과 유효성에 대하여 검토하고 혈액 중 수은의 노출 항목 변경에 대한 의견을 제시하였다.

3. 연구 활용방안

이 연구를 수은의 생물학적 노출평가 분석 업무와 수은 노출 평가 관련 규정의 개선에 활용한다.

4. 연락처

- 연구책임자 : 산업안전보건연구원 직업건강연구실 이미영
  - ☎ 052) 703. 0855
  - E-mail cookmom@kosha.or.kr

목 차

Ⅰ. 서 론 ····· 2

1. 연구의 배경 ····· 2

2. 연구의 목적 ····· 7

Ⅱ. 연구 방법 ····· 9

1. 표준시료 항목 선정 ····· 9

2. 표준시료 조제 ····· 11

3. 분석 방법 ····· 12

3. 표준시료 신뢰도 조사 ····· 15

Ⅲ. 연구 결과 ····· 17

연구제목(Kopub돋움체, 9pt) 상단의 바탕쪽 아이콘을 클릭하여 수정가능

1. 분석방법 신뢰도 ····· 17

2. 표준시료 신뢰도 ····· 18

Ⅳ. 고찰 및 결론 ····· 21

1. 고찰 ····· 21

2. 결론 ····· 24

참고문헌 ····· 25

Abstract ····· 27

부록 : ····· 29

표

<표 Ⅰ-1> 특수건강진단기관 분석정도관리 표준시료 개발 현황 ·· 3
<표 Ⅰ-2> 유기화합물 생물학적 노출평가 2차 항목 ····· 5
<표 Ⅰ-3> 유기화합물 생물학적 노출평가 권장항목 ····· 6
<표 Ⅰ-4> 금속류 생물학적 노출평가 2차 항목 ····· 6
<표 Ⅰ-5> 가스상태물질류 생물학적 노출평가 2차 항목 ····· 6
<표 Ⅱ-1> 표준시료 개발 장기 계획 ····· 9
<표 Ⅱ-2> 정도관리 참여 특수건강진단기관의 연도별 생물학적 노출지표 분석 건수 ····· 10
<표 Ⅱ-3> 환원기화수은분석 조건 ····· 13
<표 Ⅲ-1> 혈액 중 수은 시료의 균질성 평가 자료 ····· 18
<표 Ⅲ-2> 혈액 중 수은 시료의 보관 온도, 기간별 안정성 평가 자료 ·· 19
<표 Ⅳ-1> 미국의 수은 노출 평가 기준 변천 ····· 18

<그림 차례>

[그림 부록-1] 정도관리 표준시료 개발 단계 및 세부 수행 사항 ····· 29

Ⅰ. 서 론

Ⅰ. 서 론

1. 연구 배경

특수건강진단을 위한 생물학적 노출 평가는 근로자가 화학적 유해인자에 노출된 정도를 파악하기 위해 근로자의 생체시료에 포함된 유해물질이나 대사산물을 분석하여 유해물질 노출에 의한 체내 흡수정도 또는 건강영향 가능성 등의 평가의 참고가 되는 노출지표의 값을 산출하는 업무이다. 특수건강진단 기관에서는 생물학적 노출평가 결과값이 근로자건강진단 실무지침의 생물학적 노출기준을 초과하는지 평가하고, 이 결과는 근로자의 건강이 악화되기 전에 유해물질노출 감소를 위한 조치를 하는 근거로 근로자의 건강 보호에 활용된다.

산업안전보건연구원에서 수행하는 특수건강진단기관 정도관리는 노동부 위탁사업이며 분석실험실을 운영하는 특수건강진단기관에서 수행하는 생물학적 노출평가 분석결과의 신뢰도를 확인하기 위하여 특수건강진단기관의 분석실험실 대상으로 1995년부터 29년 동안 운영한 프로그램이다. 2023년 현재 특수건강진단 분석정도관리 항목은 유기분석 10항목, 무기분석 8항목 등 총 18항목으로, 산업안전보건연구원은 정도관리 참가기관이 신청하는 항목에 대해 유해화학물질의 생물학적 노출평가를 수행하는 특수건강진단기관 분석실험실의 분석 신뢰도 확인을 위한 시료를 제공한다 (<표 Ⅰ-1>).

<표 Ⅰ-1> 특수건강진단기관 분석정도관리 표준시료 개발 현황

연도	유기분석	무기분석
1995	소변 중 마뇨산	혈액 중 납
1996	소변 중 만델산 소변 중 메틸마뇨산	혈액 중 카드뮴
1997	소변 중 페닐글리옥실산	혈액 중 망간
1999	소변 중 엔메틸포름아미드(NMF)	소변 중 수은
2000	소변 중 삼염화초산 소변 중 총삼염화물	
2004	소변 중 뮤콘산 소변 중 2,5-헥산디온	소변 중 카드뮴
2008	소변 중 엔메틸아세트아미드(NMAC)	
2016		소변 중 비소
2017	소변 중 페놀	
2018		소변 중 니켈
2019	소변 중 o-크레졸	
2020		소변 중 크롬
2021	소변 중 1,2-디클로로프로판	혈청 중 인듐
2022	소변 중 TTCA	

산업안전보건연구원에서 제공하는 특수건강진단기관 분석정도관리 표준시료는 유럽 인증기구(EA, European accreditation)의 정의에 따르면 매트릭스 표준 시료에 해당하여, 인공적으로 목적 성분을 가하여 시료를 조제한다. ISO에서는 '인증표준물질'과 '표준물질'로 표준물질을 분류하며, 표준물질은 추적 가능한 목적 성분의 값, 신뢰 수준의 불확도, 충분한 균질성, 검량성, 확립된 분석 방법을 갖추어야 한다(EA, 2003). 표준물질은 1차, 2차, 실용(기관 조제)으로 분류할 수 있으며, 1차 표준물질이 되려면 분석 불확도를 감소시키기 위한 과정과 상세한 과정별 추적 근거가 필요하다. 연구원의 분석정도관리에서 제공하는 표준물질은 실용 단계에 해당한다(EA, 2003).

표준시료를 이용한 국제 정도관리 시스템에 참가하여 전 세계 대상의 분석 신뢰도를 확인할 수 있으며, 국외에서 가장 많은 생물학적 노출평가 항목의 표준시료를 제공하는 프로그램은 독일 국제정도관리 프로그램인 G-EQUAS로, 유기분석 110항목, 무기분석 34항목의 생물학적 노출평가 표준시료를 개발하여 국제정도관리를 실시하여 35개 이상의 국가에서 200여개 기관이 정도관리에 참가하고 있다(G-EQUAS, 2022). 한편, 캐나다 퀘벡 국제정도관리는 무기분석 19항목에 대해 정도관리 생체 시료를 제공하여 중금속 정도관리를 실시하고 있다(PCI, 2022).

고용노동부 고시 근로자건강진단 실무지침에서 1차 노출지표물질로 유기화합물 15종 10항목, 금속류 5종 4항목, 가스 상태 물질류 1종 2항목 등 21종 16항목, 2차 지표물질로 유기화합물 14종 18항목, 금속류 9종 12항목을 규정하였고, 산 및 알칼리류 1종 1항목, 가스 상태 물질류 2종 2항목, 영 제88조에 따른 허가대상물질(13종) 중 3종 3항목 등 총 29종 31항목을 규정하였으나(고용노동부, 2022), 아직 분석 항목에 대한 표준물질로 제공하지 못하는 항목들이 있다(<표 I-2~I-5>).

<표 Ⅰ-2> 유기화합물 생물학적 노출평가 2차 항목

(특수건강진단기관 분석정도관리 표준물질 개발 대상)

유해 물질명	시료채취		지표물질명	권장분석법	노출기준
	종류	시기			
메탄올	소변	당일	메탄올	HS GC-FID	15mg/L
	혈액	당일	메탄올	HS GC-FID	
메틸 에틸 케톤	소변	당일	메틸에틸케톤	HS GC-FID	2mg/L
메틸 이소부틸 케톤	소변	당일	메틸이소부틸케톤	HS GC-FID	2mg/g crea
벤젠 1 ppm 기준	혈액	당일	벤젠	HS GC-MSD	5㎍/L
아세톤	소변	당일	아세톤	HS GC-FID	80mg/L
2-에톡시에탄올	소변	주말	2-에톡시초산	GC-FID	100mg/g crea
이소프로필 알코올	혈액	당일	아세톤	HS GC-FID	50mg/L
	소변			HS GC-FID	50mg/L
클로로벤젠	소변	당일	총 클로로카테콜	HPLC-UVD	150mg/g crea
펜타클로로페놀	소변	주말	펜타클로로페놀	HPLC-UVD	
	혈액	당일	유리펜타클로로페놀	HPLC-UVD	5mg/L

(근로자건강진단실무지침, 2022)

<표 Ⅰ-3> 유기화합물 생물학적 노출평가 권장항목

(특수건강진단기관 분석정도관리 표준물질 개발 대상)

유해 물질명	시료채취 종류	시료채취 시기	지표물질명	권장분석법	노출기준
벤젠(1 ppm 기준)	소변	당일	S-페닐머캅토산	GC-MSD	25㎍/g crea
톨루엔(50 ppm기준)	혈액	당일	톨루엔	HS GC-FID	0.05 mg/L
퍼클로로에틸렌	혈액	주말	퍼클로로에틸렌	HS GC-FID	0.5 mg/L

(근로자건강진단실무지침, 2022)

<표 Ⅰ-4> 금속류 생물학적 노출평가 2차 항목

(특수건강진단기관 분석정도관리 표준물질 개발 대상)

유해 물질명	시료채취 종류	시료채취 시기	지표물질명	권장분석법	노출기준
납 및 그 무기화합물	소변	수시	납	AAS	150 μg/L
	소변	수시	δ-ALA	HPLC · UV	5 mg/L
수은 및 그 화합물	**혈액**	**주말**	**수은**	**AAS**	**15 μg/L**
안티몬 및 그 화합물	소변		안티몬		
오산화바나듐(분진, 흄)	소변	주말	바나듐	AAS	50 μg/g crea

(근로자건강진단실무지침, 2022)

<표 Ⅰ-5> 가스상태 물질류 생물학적 노출평가 2차 항목

(특수건강진단기관 분석정도관리 표준물질 개발 대상)

유해 물질명	시료채취 종류	시료채취 시기	지표물질명	권장분석법	노출기준
브롬	혈액		브롬이온	-	-

(근로자건강진단실무지침, 2022)

산업안전보건연구원에서는 표준물질을 개발하고 이 표준물질을 실험실에 배부하여 실험실간 분석결과 비교를 통한 외부정도관리 및 실험실의 일상적인 분석에 내부정도관리 목적으로 사용하도록 하였다. 이 연구 결과의 표준물질은 자체 또는 일상 표준물질에 해당하며, 연구진은 표준시료의 균질성과 안정성 정보를 제공하여 정도관리 표준시료의 신뢰도를 확인하는 목적으로 연구를 수행하였다.

2. 연구 목적

이 연구는 근로자 건강진단 실무지침 검사항목 항목 중에서 시료 분석의 정확도를 확인하기 위한 국내 표준시료 개발 대상 항목 중 혈액 중 수은 표준시료를 자체 개발하는 것을 목적으로 하였다. 혈액에 수은 용액을 첨가한 표준시료를 조제하고, 이 시료가 정도관리에 사용하기에 적합한 안정성과 균질성을 가지고 있음을 증명하는 것이 이 연구의 목적이다.

개발한 혈액 중 수은 표준시료는 국내 특수검진기관 분석실험실의 수은 생물학적 노출평가를 위한 분석 숙련도 확인, 향상에 활용할 수 있으며, 이 연구의 연구 방법은 각 기관의 자체 정도관리용 표준시료 조제에 활용할 수 있다.

Ⅱ. 연구 방법

Ⅱ. 연구 방법

1. 표준시료 개발 대상 항목 선정

생물학적 노출평가 표준시료 개발 대상은 산업안전보건법 시행규칙 별표 24와 근로자건강진단실무지침의 생물학적 노출기준에 생물학적 노출지표로 규정한 항목 중 아직 특수건강진단기관 분석정도관리 항목으로 개발되지 않은 항목 중(표 Ⅰ-2 ~ 5)에서 표준시료 개발 장기 계획을 수립하였고 이번 연구 대상으로 혈액 중 수은을 선정하였다(표 Ⅱ-1).

<표 Ⅱ-1> 표준시료 개발 장기 계획

연도	항목	근거
2023	혈액 중 수은	○ 생물학적 노출검사 2차 항목
2024	소변 중 S-페닐머캅토산	○ 벤젠의 선택적 노출지표 ○ 생물학적 노출검사 권장항목
2025	소변 중 바나듐	○ 생물학적 노출검사 2차 항목
2026	소변 중 유기용제	○ 유기용제의 선택적 노출지표 ○ 생물학적 노출검사 2차 항목
2027	혈액 중 유기용제	〃

근로자가 작업 중 노출되는 수은은 [수은 및 그 화합물]로 분류하는 무기 수은과 유기 성분이 수은과 결합한 [알킬수은화합물]이다. 근로자가 무기 수은에 노출되는 작업은 금속 제련 및 정련, 수은등 또는 형광등의 제작, 수리, 해체, 텅스텐제조 등 특수주형 합금, 수은화합물 제조 및 취급 업체나 실험실, 치과용 수은아말감 취급, 농약 및 의약품 제조 작업 등이며, 알킬수은화합물은 살균제, 살충제, 제초제, 진균제 등의 약품 제조, 취급 시 노출된다.

무기 수은 노출은 사람의 호흡기, 폐, 신장, 피부, 중추신경계 이상을

일으키며, 알킬수은화합물 중 메틸수은은 사람에게 발암 가능성이 있는 물질이다. 2017년에는 국내에서 형광등 공장 철거 시 수은 증기 노출로 인한 급성 수은 중독으로 근육통, 수면장애, 기침, 가래 증상, 정신적 문제와 피부 이상, 운동이상, 감각마비, 비뇨기계 장애가 발생한 사례가 있다(Do et al., 2017).

소변 중 무기수은농도는 장기노출에 의해 축적된 정도를 반영하며, 혈중 수은은 최근의 노출만을 반영한다. 전혈 중 수은의 증가는 한 주나 그 이상 지속될 수 있다(김형렬 등, 2010).

국내 생물학적 노출기준은 소변 중 총 수은 50 μg/g creatinine, 혈액 중 총 수은 15 μg/L(근로자건강진단실무지침, 2022)이며, 미국은 ACGIH에서 소변 중 총무기수은의 생물학적 노출 기준을 20 μg/g creatinine으로 설정하고, 독일은 25 μg/g creatinine으로 설정하여 수은 노출근로자의 건강관리를 하고 있다. 독일은 유기수은 노출에 대한 생물학적 노출기준을 소변 중 수은 100 μg/L로 규정하였다(김형렬 등, 2010).

<표 Ⅱ-2> 정도관리 참여 특수건강진단기관의 연도별 생물학적 노출지표 분석 건수(김현수, 2020) (단위: 건)

검사명	2016년	2017년	2018년	2019년
혈중 수은(알킬)	1	-	-	1
혈중 수은(무기)	2	2	3	6
요중 수은량(무기)	1,341	2,365	3,844	4,603
요중 수은(알킬)	327	450	654	1323
소계	2,019	2,019	2,021	2,026
계	14,909			

호문기 등(2006)이 230명의 일반인에 대해 조사한 혈액 중 수은의 평균은 3.19 μg/L였고, 이 중 WHO의 일반인 노출 기준인 5 μg/L를 초과한 사람은 7%였다.

김현수 등(2020)이 조사한 2016~2019년의 수은 관련 생물학적 노출 평가 분석실적은 총 14,909건이었으며, 이 중 혈액 중 수은의 분석은 15건이었다. 혈액 중 수은을 생물학적 노출지표로 사용한 실적은 적었으나 혈액 중 수은은 수은의 급성 노출에 대한 생물학적 노출평가 2차 항목이므로 혈액 중 수은의 분석 신뢰도 확인을 위한 연구를 수행하였다.

2. 표준시료 조제

양정선 등(1998)의 혈중 중금속 분석을 위한 표준시료의 제조방법에 따라 조제한 사람 혈액을 사용하여 표준시료를 조제하였다.

혈액 중 수은의 농도는 고용노동부 고시 근로자건강진단 실무지침의 혈액 중 수은의 생물학적 노출지표 노출기준값인 15 μg/L의 1/2, 1, 2 배인 3가지 농도의 시료를 조제하였다. 1,000 mg/L 수은 표준시약 0.1 mL를 10 mL 용량플라스크에 취하고 1% 질산을 가해 표선을 채워 10 mg/L 용액을 조제하였다. 10 mg/L 용액 0.19, 0.38, 0.75 mL를 각각 자석교반기로 교반한 250 mL의 혈액에 천천히 가하여 7.5, 15.0, 30.0 μg/L의 혈액 중 수은 표준시료를 조제하였다. 조제한 시료를 Simport사(캐나다)의 5 mL 저온보관용 바이알에 4.5 mL씩 소분하여 균질성과 안정성 확인에 사용하였다.

이 연구에서는 인체 독성이 큰 메틸 수은 등 유기 수은은 혈액에 첨가하지 않고 무기 수은만 첨가하여, [수은 및 그 화합물]의 생물학적 노출평가만 가능한 표준시료를 조제하였다.

3. 분석 방법

1) 시약 및 장비

수은 표준시약은 inorganic mercury사(미국), 수소화붕소나트륨($NaBH_4$), antifoaming agent, 수산화나트륨, 염산(30%)은 Sigma-Aldrich사(미국), 질산은 OCI company Ltd(한국)의 electronic grade(70%) 제품을 구매하여 사용하였다. 혈액 중 수은 표준시료는 BioRad사(미국)의 Clinchek 제품을 구매하여 사용하였다. 탈이온수는 Millipore사(미국)의 Milli-RO와 Milli-Q water system으로 실험실에서 만들어 사용하였다.

혈액 중 수은은 Perkin-Elmer사(미국)의 FIMS(Flow injection mercury system)으로 분석하였다.

2) 시약 조제

(1) 표준용액

1,000 mg/L 수은 표준시약 0.1 mL를 10 mL 용량플라스크에 취하고 1% 질산으로 표선을 채워 10 mg/L 용액을 조제하였다. 10 mg/L 수은 용액 90μL를 10 mL 용량플라스크에 넣고 1% 질산으로 표선을 채워 90 μg/L 용액을 조제하였다. 90 μg/L 용액을 각각 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 mL 취하여 10 mL 용량플라스크에 넣고 1% 질산으로 표선을 채워 5.0, 10.0, 20.0, 30.0 μg/L의 검량선 작성용 표준용액을 조제하였다.

(2) 분석용 시약

3% 염산은 30% 염산 86 mL를 탈이온수 900 mL와 혼합하여 조제하였다.

환원기화수은분석법용 0.2% 수소화붕소나트륨 용액은 실험당일 조제하였고, 수산화나트륨 0.5g, 수소화붕소나트륨 2g을 1,000 mL 용량 플라스크에 넣고 탈이온수로 표선을 맞추어 조제하였다. 3% 질산을 세척액으로 사용하였다.

3) 시료 전처리

가수분해 용기에 초음파장치에 표준용액과 중금속 미첨가 혈액 각각 500 μg/L, 분석 시료는 혈액과 탈이온수 각각 500 μg/L를 넣고 진한 질산 5 mL를 넣은 후 밀봉하여 초음파 장치에서 유기물을 분해하였다. 냉장고에서 온도를 낮춘 시료를 탈이온수로 10배 희석하여 검액을 조제하였다.

4) 시료 분석

환원기화수은분석장치의 파장은 253.7 nm로 설정하고, 500 μL 루프를 사용하여 시료를 분석하였다. 3% 염산을 10 mL/분 속도로, 환원액은 5mL/분 속도로 가하면서 표준용액과 시료를 아래 프로그램을 사용하여 분석하였다.

<표 Ⅱ-3> 환원기화수은분석 조건

단계	시간(초)	펌프1	펌프2	실행
1	15	100	120	채우기
2	17	100	120	채우기
3	15	0	120	주입

5) 분석방법 신뢰도

(1) 검량 범위

수은 5.0 - 30 μg/L 범위에서 수은의 농도, 피크면적을 이용하여 검량선을 작성하고 상관계수를 구하여 검량선의 직선성을 확인하였다.

(2) 검출한계

검량선 작성 자료를 이용한 통계적 방법으로 수은의 농도와 검출값의 상관계수로부터 분석방법의 검출한계를 구하였다(AIHA,1988).

(3) 정밀도

같은 농도의 시료 3개 바이알을 각각 분석하여 정밀도를 산출하였다.

(4) 정확도

각 시료를 3회 분석하여 구한 회수율을 정확도로 사용하였다.

4. 표준시료 신뢰도 조사

1) 균질성 평가

소분 단위간 변이(between-unit variation)와 분석법 변이(analytical method variation) 사이에 통계적으로 유의한 차이가 없다면 각 소분 단위간에 균질하다고 판단할 수 있다(Lawn R et al, 2001). 같은 농도의 시료 10개를 2회씩 반복 분석하고, 그 결과를 통계 처리하여 95% 신뢰수준에 해당하는 균질성을 평가하였다(부록 2).

2) 안정성 평가

표준시료를 상온(25℃), 냉장(4℃), 냉동(-20℃), 초저온냉동(-80℃)의 온도에서 각각 30일까지 보관하면서 조제 직후, 조제후 7일, 조제후 30일 경과 시점의 각 시료 분석값을 비교하였다. 온도, 보관 기간별로 같은 농도의 다른 바이알 시료를 3개씩 분석하고, 95% 신뢰수준에서 안정성을 평가하였다(부록 3).

Ⅲ. 연구 결과

Ⅲ. 연구 결과

1. 분석방법 신뢰도

1) 검량 범위

5.0 - 30 μg/L 범위에서 검량선의 상관계수는 0.999로, 검량선 범위에서 직선성이 양호하였다.

2) 검출한계

검량선 작성 자료를 이용하여 분석방법의 검출한계를 통계적 방법으로 산출한 결과는 0.3 μg/L였고 정량한계는 1.0 μg/L로, 노출 기준이 15 μg/L인 혈액 중 수은 분석에 적용 가능하였다.

3) 정밀도

5.0 - 30 μg/L 농도 범위에서 3회 분석 시 변이계수는 6.2 % 이하였으므로 분석 방법의 정밀도는 양호하였다.

4) 정확도

세 가지 농도의 표준시료를 분석한 수은의 회수율로 표현한 정확도는 102% - 113%였다.

2. 표준시료 신뢰도

1) 균질성

각 농도별로 10 개의 시료를 2 회 반복 분석하고, 그 결과 계산하여 구한 F값을 기준 F값과 비교하는 정밀도 산출 방법을 사용하여 균질성을 평가하였다. 기준 F값인 3.020보다 시료 분석 결과를 통계 처리한 F값이 작으면 균질하다고 정의하며, <표 Ⅲ-1>의 결과로부터, 이 3개 농도의 시료는 모두 균질하다고 평가하였다.

<표 III-1> 혈액 중 수은 시료의 균질성 평가 자료

시료	분석값 평균(㎍/L)	F 값
1	7.4	1,083
2	14.8	2,812
3	28.8	2.947

2) 안정성

각 항목에 대해 농도별로 3개의 시료에 대한 분석 결과를 내어, 이로부터 구한 RT±URT 범위에 1.00 이 포함되면 95% 신뢰수준에서 CTm이 Crefm과 유의하게 다르지 않으며, 따라서 주어진 조건 아래 유의한 변화가 없이 안정하다고 볼 수 있다.

-20 ℃와 -80 ℃에서 냉동한 혈액 중 수은 시료는 30일 경과 시점까지 안

정하였으며, 냉장 보관 시료는 7일까지 안정하였다. 상온 보관 시료는 혈액 중 수은의 농도가 감소하여 안정하다고 평가할 수 없어, 혈액 중 수은의 생물학적 노출 평가에 적절하지 않았다.

<표 Ⅲ-2> 혈액 중 수은 시료의 보관 온도, 기간별 안정성 평가 자료

보관조건	농도 1 RT±U_{RT}		농도 2 RT±U_{RT}		농도 3 RT±U_{RT}	
조제당일	0.986	1.014	0.993	1.007	0.994	1.006
-80℃, 7일경과	0.960	1.027	0.993	1.019	0.983	1.010
-80℃, 30일경과	0.986	1.014	0.993	1.012	0.963	1.018
-20℃, 7일경과	0.979	1.021	0.993	1.012	0.950	1.011
-20℃, 30일경과	0.976	1.015	0.986	1.005	0.989	1.009
4℃, 7일경과	0.932	1.033	0.993	1.007	0.943	0.004
4℃, 30일경과	0.818	0.877	0.799	0.885	0.883	0.946
RT, 7일경과	0.951	0.977	0.879	0.918	0.819	0.956
RT, 30일경과	0.694	0.858	0.671	0.801	0.716	0.859

Ⅳ. 고찰 및 결론

Ⅳ. 고찰 및 결론

1. 고찰

산업안전보건법 시행규칙과 근로자 건강진단 실무지침에서 수은 노출 근로자의 건강 영향 평가를 위한 생물학적 노출 지표는 생물학적 노출평가 1차 항목인 소변 중 수은과 2차 항목인 혈액 중 수은을 평가하도록 규정하고 있다. 수은은 상온에서 액체 상태이며 기화하는 성질이 있어서, 중금속 분석 장비인 원자흡광분광광도기로 분석하는 과정에서 시료를 처리하기 위해 고온을 가하면 분석 대상 물질인 수은이 휘발하므로 중금속인 납이나 카드뮴과 달리 원자흡광분광분석법으로는 일정한 분석값을 얻기 어렵다. 따라서 수은이나 비소와 같이 상온에서 기화 또는 승화하는 성질을 가진 무기 성분은 시료에 환원제를 첨가하여 중금속을 환원시키고, 이동상 가스를 타고 기체 상태로 나오는 중금속을 분석하는 환원기화분석법을 사용하여 분석한다.

이 연구에서 혈액 중 수은 분석에 사용한 환원기화분석법에서는 강력한 환원제인 수소화붕소나트륨($NaBH_4$)을 사용하므로 무기 수은뿐 아니라 메틸수은을 비롯한 유기 수은의 수은도 환원시키므로, 이 방법은 시료 안에 존재하는 총 수은을 분석하는 방법이다(Angerer 등. 1988).

수은 분석 과정에서 시료에 포함된 수은이 장비의 플라스틱이나 유리 재질을 지나면서 부속 기구나 연결관 내부에 흡착하는 성질이 있어서 수은의 흡착 방지를 위해 금이나 백금을 첨가하여 수은이 이동 중에 이들 금속에 흡착하여 장비 내부의 오염을 일으키지 않도록 한다. 이 연구에서는 외부에서 흡착 물질을 첨가하지 않고 수은의 잔류 영향이 크지 않아 수은의 배경 농도가 높아지지 않는 30 μg/L 이하의 수준으로 시료 중 수은을 분석하였다.

혈액 중 수은의 생물학적 노출기준이 15 μg/L이므로, 이 농도의 1/2 농도인

7.5 μg/L와 2배 농도인 30 μg/L로 혈액 시료를 조제하여 노출기준을 중심으로 저농도와 고농도 범위에서의 균질성을 검토하였다. 시료가 일정한 속도로 연속적으로 분석 장비로 주입되는 flow injection 방식이므로, 분석의 재현성이 좋을 것으로 기대하였다. 균질성 검토 결과, 저, 중, 고농도의 시료 모두 균질하다고 평가하였다.

소변 중 수은은 수은의 휘발성으로 인해 시료 채취 후 성분이 소실되기 쉬워서 소변 채취 후 소변 시료에 산을 가하지 않으면 시료 채취 후 보관 중에 시료 중의 수은이 소실되므로 초산이나 염산, 설파민산 등을 가하여 시료를 안정화시킬 필요가 있으며, 시료 운반이나 보관도 냉장이나 냉동 온도가 요구된다. 이 연구에서 혈액 중 수은은 냉동 보관 시 1개월까지 안정하였고, 냉장 보관 시는 7일까지 안정하여, 시료 채취 시와 동일한 값을 얻으려면 시료 채취 후 이동과 보관 시 냉장 또는 냉동 보관이 필요하였다.

한편, 미국 OSHA 문서에서는 혈액 중 수은이 최근의 수은 노출을 반영하지만, 해산물이나 생선 섭취 등 식품 섭취로 인한 유기 수은 노출이 혈액 중 수은의 값을 높이는 문제를 제시하였다(ACGIH, 2013). 해안 지역 주민들의 혈액 중 수은 농도가 평균 32 μg/L로 평가된 외국의 과거 사례가 있고(Renzoni 등, 1998), 식품 함유 수은 농도도 달걀이나 육류에서 10 μg/L 이상 포함된 예도 있다(WHO, 1976). 미국 ACGIH에서는 2011년까지는 알킬 수은과 아릴 수은, 금속 수은 노출을 평가하였으나 2012년부터는 알킬 수은과 금속 수은 노출을 평가하였다.

혈액 중 수은은 급성 수은 노출 근로자의 최근 수은 노출 확인에는 활용할 수 있으나, 근로자의 식품 섭취로 인한 유기 수은 섭취가 근로자의 수은 노출에 의한 생물학적 노출평가에 큰 방해가 되어(Que Hee, 1993) 생물학적 노출지표로 활용하기에 어려움이 있으므로 미국 ACGIH에서는 2013년부터 생물학적 노출지표로는 소변 중 수은만을 평가하고, 수은의 생물학적 노출지표에서

혈액 중 수은을 삭제하였다(OSHA, 2013). 또한 신경계와 신장 독성을 고려하여 2012년까지 35 μg/g 크레아티닌이었던 소변 중 수은 노출기준을 2013년부터 20 μg/g 크레아티닌으로 강화하였다(표 Ⅳ-1).

수은 노출 평가를 위한 국내 생물학적 노출평가 기준은 2019년까지 1차 항목인 소변 중 수은 200 μg/L, 2차 항목 혈액 중 수은 15 μg/L였으며, 2020년에 소변 중 수은 노출기준을 50 μg/g 크레아티닌으로 강화한 바 있다. 현행 노출 기준에 대해 표적 장기에 대한 독성을 고려한 소변 중 수은 노출기준의 강화를 검토할 필요가 있으며, 해산물과 생선 섭취가 많은 국내 식습관이 혈액 중 수은 분석값을 높여 직업적 수은 노출 평가에 영향을 줄 수 있음을 고려하여(Ho, 2006) 특수건강진단 관련 규정에서 혈액 중 수은 항목을 특수건강진단 생물학적 노출평가 2차 항목에서 권장 항목으로 변경할 것을 제안한다.

<표 Ⅳ-1> 미국의 수은 노출 평가 기준 변천
(ACGIH, 2013)

연도	금속 수은	유기 알킬 수은	무기, 유기수은(알킬수은 제외)	아릴 수은과 무기 수은	총 수은(알킬 수은 제외)	소변 중 총 수은	혈액 중 총 수은
1946	MAC_TWA 0.1 mg/m3						
1948	TLV_TWA 0.1 mg/m3						
1956		TLV_TWA 0.01 mg/m3					
1970							
1971			TLV_TWA 0.05 mg/m3				
1976		STEL 0.03 mg/m3	STEL 0.15 mg/m3				
1982			TLV_TWA 0.05 mg/m3	TLV_TWA 0.1 mg/m3			
1990							
1993					TLV_TWA 0.1 mg/m3	35 μg/g crea.	15 μg/L
1994					TLV_TWA 0.025 mg/m3		
2013						20 μg/g crea.	
2023							

2. 결론

1) 혈액 중 수은 표준시료의 신뢰성 조사

균질화 전처리를 거친 중금속 미첨가 혈액에 수은 표준용액을 첨가하여 혈액 중 수은 표준 시료를 조제하였고, 이 시료가 특수건강진단에서 혈액 중 수은 분석의 내, 외부 정도관리 시료로 활용 가능함을 확인하였다.

2) 혈액 중 수은의 생물학적 노출평가

혈액 중 수은은 농도 급성 수은 노출 근로자의 수은 노출 확인에는 활용할 수 있으나, 식품이나 환경에 의한 혈액 중 수은 농도의 영향이 커서 생물학적 노출지표로 사용하기에 어려움이 있으므로 특수건강진단 관련 규정에서 이 노출지표를 권장 항목으로 변경할 것을 제안한다.

참고문헌

양정선 등, 혈중 중금속 분석을 위한 표준시료의 제조방법, 특허 제 165653호, 대한민국 특허청, 1998.

김형렬 등, 생물학적 노출평가 기준 및 분석방법 연구 III, 산업안전보건연구원, 2010. 53-87 p.

김현수 등, 특수건강진단 생물학적 노출평가 개선방안, 산업안전보건연구원, 2020. 43 p.

한국산업안전보건공단. 근로자건강진단 실무지침 제 1권. 한국산업안전보건공단; 2022. 214 p.

ACGIH. TLVs and BEIs, Base o the Documentation of the threshold limit values for chmical substances and physical agents & biological exposure indices. U.S.A.: ACGIH. 2019. 112 p.

ACGIH. 2013 TLVs and BEIs Threshold limit values for chmical substances and physical agents & biological exposure indices with 7th edition documentation: Mercury, elemental. U.S.A.: ACGIH. 2013. 8 p.

Angerer J, Shaller K.H, Analysis of hazardous substances of biological materials Volume 2, U.K.: VCH Publishers, 1988. 195-211 p.

Que Hee S, Biological monitoring: An introduction, 16th ed. U.S.A.: Van Nostrand Reinhold, 1993. 480 p.

Do SY, Lee CG, Kim JY et al. Cases of acute mercury poisoning by

mercury vapor exposure during the demolition of a fluorescent lamp factory. Ann Occup Environ Med. 2017;29: 19 p.

Brookman B, Walker R., Guidelines for the in-house production of reference materials, ver. 2: LGC/VAM/1998/040: LGC, 1998.

Cornelis R, Crews H, Donard OFX, Ebdon L,Quevauviller Ph,. Trends in cerified reference materials for the speciation of trace elements Fresenius J Anal Chem. 370. 2001. 120-125 p.

EA., The selection and use of reference materials: EA-4/14 (rev.00): European co-operation for Accreditation, 2003.

Ho M-K et al, Association betwee blood mercury concentration and factor of health/life, J. environ.Toxicol. 2006; 21: 3: 229-238 p.

WHO. environmental Health Criteria 1: Mercury. WHO, Geneva, 1976. 94-131 p.

Abstract

Development of reference material of mercury in blood for biological monitoring of mercury

Objectives : The author developed reference material of mercury in blood to enhance analytical ability of laboratories in industrial health to apply this method for proficiency test on biological monitoring of workers exposed to mercury.

Method : The author spiked mercury to blood to prepare 3 levels of mercury in the range of 8 - 30 μg/L including BEI of mercury, 15 μg/L. The homogeneity and stability of these samples were checked up to 30 days considering storage temperature conditions. The analytical method was inductively coupled plasma-mass spectrometer and flow injection mercury system.

Results : The samples' homogeneity at confidence level of 95% was acceptable. The recovery of mercury in blood up to 30 days were acceptable at freezing condition and up to 7 days in refrigerator.

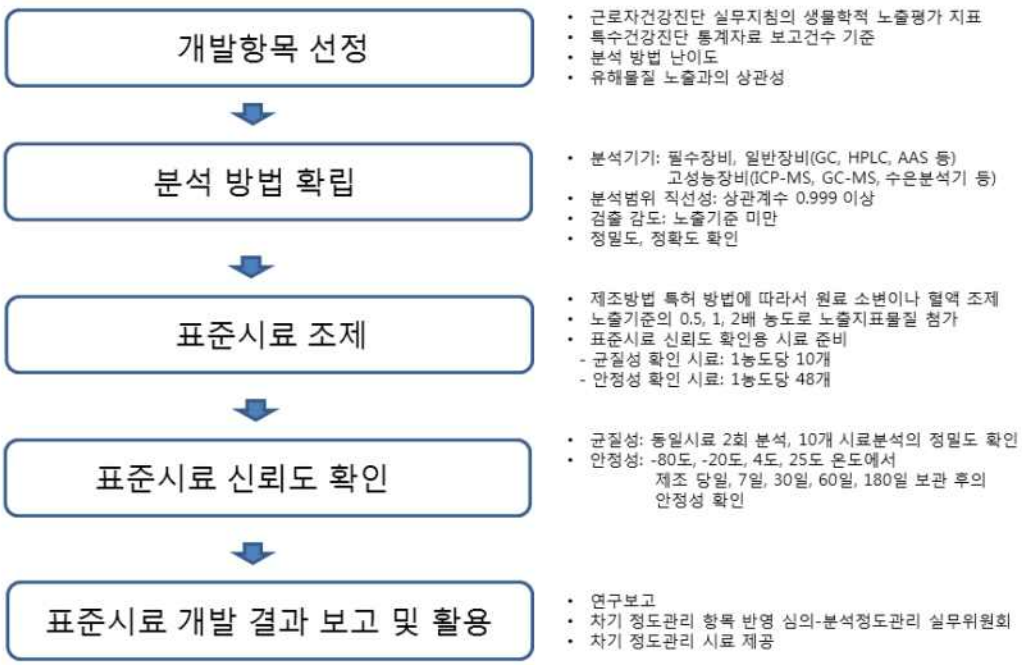
Conclusion : The credibility of mercury in blood was confirmed by stability and homogeneity. Technically, this item can be applied for proficiency test of laboratories performing biological monitoring of

mercury. However, mercury in blood is to be reconsidered as biomarker of mercury exposure due to high background from dietary and environmental factors.

Key words : mercury in blood, biological monitoring, reference material

부록

부록 1: 정도관리 표준시료 개발 과정



[그림 부록-1] 정도관리 표준시료 개발 단계 및 세부 수행 사항
(이미영, 2022)

부록 2: 균질성 평가(BAM,2004)

분석법의 반복성 표준편차를 S_a, n개 단위를 분석했을 때 관측된 표준편차를 S_o, 단위간 표준편차를 S_b, 분석 표준편차를 S_a라 하고,

n개 단위를 취하여 2회씩 반복분석하면 S_a값은 다음과 같이 계산된다.

$$S_a = \sqrt{\frac{\sum d^2}{2n}}$$

여기서 d는 2회 반복분석했을 때 두 분석값의 차이이다.

S_o값은 n개의 평균값으로부터 구해진 표준편차이다.

그러면 S_b는 다음 식으로 계산된다.

$$S_b = \sqrt{S_o^2 - \frac{S_a^2}{2}}$$

또, 분석 표준편차 S_a는 $\frac{S_a}{\sqrt{2}}$ 로 계산된다.

S_b 와 S_a가운데 더 큰 값을 존재할지도 모르는 비균질성으로 인한 표준불확도 u_{hom}로 채택한다.

n=10, 즉 10개 단위를 취하여 2회씩 반복 분석하고 95% 신뢰수준에서 균질성을 평가하는 경우를 보면

확장불확도 U_{hom}는

$$U_{\mathrm{hom}} = t \times u_{\mathrm{hom}}$$

으로 계산되며 k=2 일 때, 즉 95% 신뢰수준에서는 t = 2.262 (통계표에서 n = 10이므로 df = 9)이므로 U_{hom} = *2.262 * u_{hom}* 이다.

% 확장불확도는

% 확장불확도 $= 100 \times \frac{U_{\mathrm{hom}}}{overall\ mean}$ 로 계산된다.

그리고 시료의 균질성은 다음 분산분석표에서 F 값이 F_{crit} 보다 작으면 균질하다고 말할 수 있다. 95% 신뢰수준, n=10, h=2일 때 F_{crit} 값은 3.02이다.

	Sum of squares	df	Mean squre	F
Between units	$h\sum_i(\overline{x_i}-\overline{x})^2$	$n-1$	$\frac{Sum\ of\ squares}{df}$	$\frac{Mean\ squre\ _{between}}{Mean\ squre\ _{within}}$
Within units	$\sum_i\sum_j(x_{ij}-\overline{x_i})^2$	$n(h-1)$	$\frac{Sum\ of\ squares}{df}$	–
Total	$\sum_i\sum_j(x_{ij}-\overline{x})^2$	$hn-1$	–	–

부록 3: 안정성 평가(BAM,2004)

표준시료를 제조 직후 N_{ref}번 반복분석했을 때의 평균값을 C_{refm}, 표준편차를 S_{ref} 라 하고; T ℃에서 보관한 표준물질을 N_T번 반복분석했을 때의 평균값을 C_{Tm}, 표준편차를 S_T 이라 하고; C_{Tm}을 C_{refm}로 나눈 비를 R_T 라 하면

평균값 C_{refm}의 표준편차 S_{refm}은

$S_{refm} = \frac{S_{ref}}{\sqrt{N_{ref}}}$ 로 계산된다.

평균값 C_{Tm}의 표준편차 S_{Tm}은

$S_{Tm} = \frac{S_T}{\sqrt{N_T}}$ 로 계산된다.

R_T의 표준편차 S_{R_T}는

$S_{R_T} = R_T \times \sqrt{\left\{\frac{S_{refm}}{C_{refm}}\right\}^2 + \left\{\frac{S_{Tm}}{C_{Tm}}\right\}^2}$ 로 계산된다.

R_T의 확장불확도 U_{R_T} 는

$U_{R_T} = t \times S_{R_T}$ 로 계산되며,

여기서 t 값은 통계표에서 자유도 $N_{ref} + N_T - 2$, 신뢰수준 95%로 찾은 값이다.

그리고 $R_T \pm U_{R_T}$ 범위가 1.00을 포함하면 95 % 신뢰수준에서 C_{Tm}이 C_{refm}과 다르지 않다, 즉 시료가 안정하다고 판단한다.

연구진

연 구 기 관 : **산업안전보건연구원**

연 구 책 임 자 : 이미영(선임연구위원, 직업건강연구실)
연 구 원 : 유희선(연구원, 직업건강연구실)

연구기간

2023. 01. 02. ~ 2023. 11. 30.

본 연구보고서의 내용은 연구책임자의 개인적 견해이며,
우리 연구원의 공식견해와 다를 수도 있음을
알려드립니다.

산업안전보건연구원장

수은의 생물학적 노출 평가 표준 시료 개발

(2023-산업안전보건연구원-964)

발 행 일 : 2023년 11월 30일
발 행 인 : 산업안전보건연구원 원장 김은아
연구책임자 : 산업안전보건연구원 선임연구위원 이미영
발 행 처 : 안전보건공단 산업안전보건연구원
주 소 : (44429) 울산광역시 중구 종가로 400
전 화 : 052-703-0855
팩 스 : 052-703-0335
Homepage : http://oshri.kosha.or.kr
I S B N :
공공안심글꼴 : 무료글꼴, 한국출판인회의, Kopub바탕체/돋움체