

연구보고서

이황화탄소의 생물학적 노출평가 표준시료 개발

이미영

요약문

- 연구기간 2022년 01월 ~ 2022년 11월
- 핵심단어 생물학적노출평가, 이황화탄소, TTCA
- 연구과제명 이황화탄소의 생물학적 노출평가 표준시료 개발

1. 연구배경

산업안전보건연구원에서 수행하는 특수건강진단기관 분석정도관리는 생물학적 노출평가 분석의 신뢰성을 확인하고 분석기관의 분석 능력을 향상하기 위한 노동부 위탁 사업이다. 1995년부터 실시한 특수건강진단기관 분석정도관리는 유기분석과 무기분석 각 1항목부터 확인을 시작하였으며, 2005년까지 15항목의 표준시료를 개발하여 정도관리 시료로 제공하였다. 2015년부터는 생물학적 노출 평가 필요성이 있는 분석 항목을 차례대로 표준시료로 개발하여, 2021년에는 무기 분석 8 항목, 유기 분석 13 항목의 표준시료를 분석정도관리 항목으로 제시하였다. 이 연구는 국내 생물학적 노출 평가 항목으로 이황화탄소의 생물학적 노출지표인 소변중 TTCA 표준 시료를 조제하고, 표준시료로 활용하기 위한 신뢰도를 조사하여 이를 분석정도관리에 활용하는 목적으로 수행하였다.

2. 주요 연구내용

○ 표준시료 조제와 분석

- 소변 중 TTCA의 생물학적 노출기준을 포함한 저, 중, 고농도의 3개 표

준시료를 만들고, 30% 메탄올 0.2% 초산 수용액 이동상과 C18 컬럼을 사용하여 액체크로마토그래프-자외부검출기로 소변 중 TTCA를 분석하였다.

○ 표준시료 신뢰도 조사

- 소변 중 TTCA 시료 10개를 2회 반복 분석하여 균질성을 조사하였고, 시료는 모두 균질함을 확인하였다. 조제한 표준시료를 상온, 냉장, 냉동, 초저온 냉동 온도 조건에서 1개월까지 보관한 후 시료 중 TTCA의 안정성을 조사한 결과, 저농도 시료는 냉장 보관 1주일까지 안정하였고, 모든 시료는 냉동 보관 시 30일까지 안정함을 확인하였다.

3. 연구 활용방안

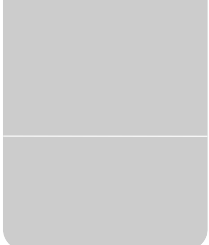
- 특수건강진단기관 정도관리 항목에 소변 중 TTCA를 추가하여 분석정도관리 사업에 연구 결과를 활용한다.
- 이 연구에서 개발한 표준시료를 활용하여 특수건강진단기관에서 수행하는 이황화탄소 노출 근로자의 생물학적 노출 평가를 위한 TTCA 분석의 신뢰도를 확인하고 분석 방법을 개선하여 이황화탄소 노출 근로자의 건강 보호에 활용한다.

4. 연락처

- 연구책임자 : 산업안전보건연구원 직업건강연구실 선임연구위원 이미영
 - ☎ 052) 7030. 855
 - E-mail cookmom@kosha.or.kr

목 차

I. 서 론	3
1. 연구배경	3
2. 연구목적	7
II. 연구방법	11
1. 표준시료 항목 선정	11
2. 표준시료 조제	13
3. 분석 방법	13
1) 시약 및 장비	13
2) 시약 조제	14
3) 시료 및 표준용액 전처리 과정	14
4) 고성능액체크로마토그래프 자외부검출법	15
5) 분석방법 신뢰도 조사	15
4. 표준시료 신뢰도 조사	16
1) 균질성 평가	16



목 차

2) 안정성 평가	17
-----------------	----

Ⅲ. 연구결과 21

1. 분석방법 신뢰도	21
1) 직선성	21
2) 검출한계	21
3) 정밀도	22
4) 정확도	22
2. 표준시료 신뢰도	22
1) 균질성 평가	22
2) 안정성 평가	23

Ⅳ. 고찰 및 결론 27

1. 고찰	27
2. 결론	30

참고문헌	31
Abstract	35
부 록	37
부록 1: 정도관리 표준시료 개발 과정	37
부록 2: 균질성 평가(BAM,2004)	38
부록 3: 안정성 평가(BAM,2004)	40

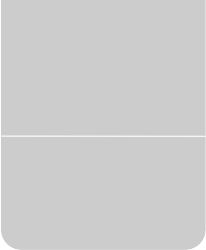
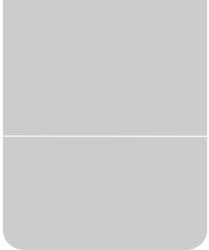


표 목차

〈표 I-1〉 특수건강진단 분석정도관리 표준시료 개발 현황	4
〈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 II-1〉 표준시료 개발 장기 계획	12
〈표 II-2〉 이황화탄소의 작업환경측정 결과	12
〈표 III-1〉 TTCA 첨가 시료 균질성 평가	23
〈표 III-2〉 TTCA 첨가 시료 안정성 평가	24
〈표 IV-1〉 이황화탄소의 나라별 작업환경 노출기준	28
〈표 IV-2〉 이황화탄소의 나라별 생물학적 노출기준	28



그림목차

[그림 Ⅲ-1] TTCA 표준용액의 검량선 예시	21
[그림 Ⅲ-2] TTCA 표준용액의 HPLC/UV 크로마토그램 예시	22
[그림 IV-1] 이황화탄소의 대사, 배설 과정	27
[그림 IV-2] 유기용제 분석장비 배기설비 개선 예시	30
[그림 부록-1] 정도관리 표준시료 개발 단계 및 세부 수행 사항	37

I. 서론

.....

I. 서론

1. 연구배경

특수건강진단기관 분석실험실에서는 근로자가 화학적 유해인자에 노출된 정도를 파악하기 위해 근로자의 생체시료에 포함된 유해물질이나 대사산물을 분석하여 유해물질 노출에 의한 체내 흡수정도 또는 건강영향 가능성 등을 평가하는 생물학적 노출평가 업무를 수행한다.

생물학적 노출평가 결과는 유해물질에 노출된 근로자의 건강진단의 참고자료로 사용되며, 근로자의 건강이 악화되기 전에 유해물질노출을 감소시켜 근로자의 건강을 보호하는 역할을 한다.

산업안전보건연구원에서 수행하는 특수건강진단 정도관리는 노동부 위탁사업이며 생물학적 노출평가 분석결과와 신뢰도를 확인하기 위하여 특수건강진단기관의 분석실험실 대상으로 1995년부터 27년동안 특수건강진단기관 분석정도관리 프로그램을 운영하였다. 2022년 현재 특수건강진단 분석정도관리 항목은 유기분석 13항목, 무기분석 8항목 등 총 21항목으로, 각 원인 유해물질의 생물학적 노출평가를 수행하는 특수건강진단기관 분석실험실의 분석 신뢰도 확인을 위한 시료로 제공된다(〈표 I-1〉).

〈표 I-1〉 특수건강진단 분석정도관리 표준시료 개발 현황

연도	유기분석	무기분석
1995	소변 중 마노산	혈액 중 납
1996	소변 중 만델산 소변 중 메틸마노산	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 묇곤산 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

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, 2020). 한편, 캐나다 퀘벡 국제정도관리는 무기분석 19항목에 대해 정도관리 생체 시료를 제공하여 중금속 정도관리를 실시하고 있다(PCI, 2020).

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 규

정하였고, 산 및 알칼리류 1종 1항목, 가스 상태 물질류 2종 2항목, 영 제88조에 따른 허가대상물질(13종) 중 3종 3항목 등 총 29종 31항목을 규정하였으나(고용노동부, 2021), 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 μ g/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, 2021)

〈표 I-3〉 유기화합물 생물학적 노출평가 권장항목
(특수건강진단기관 분석정도관리 표준물질 개발 대상)

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

(근로자건강진단실무지침, 2021)

〈표 I-4〉 금속류 생물학적 노출평가 2차 항목
(특수건강진단기관 분석정도관리 표준물질 개발 대상)

유해 물질명	시료채취		지표물질명	권장분석법	노출기준
	종류	시기			
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, 흙)	소변	주말	바나듐	AAS	50 µg/g crea

(근로자건강진단실무지침, 2021)

〈표 I-5〉 가스상태 물질류 생물학적 노출평가 2차 항목
(특수건강진단기관 분석정도관리 표준물질 개발 대상)

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

(근로자건강진단실무지침, 2021)

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. 연구목적

이 연구는 근로자 건강진단 실무지침 검사항목 항목 중에서 시료 분석의 정확도를 확인하기 위한 국내 표준시료 개발 대상 항목 중 소변중 TTCA 표준시료를 자체 개발하는 것을 목적으로 하였다. 소변에 TTCA(2-thiothiazolidine-4-carboxylic acid)을 첨가한 표준시료를 조제하고, 이 시료가 정도관리에 사용하기에 적합한 안정성과 균질성을 가지고 있음을 증명하는 것이 이 연구의 목적이다.

개발한 소변중 TTCA 표준시료는 국내 특수검진기관 분석정도관리에 활용하여 향후 이 항목을 분석하는 특수건강진단기관 분석실험실의 분석 숙련도를 확인하고 향상시키고자 하였다.

Ⅱ. 연구방법



II. 연구방법

1. 표준시료 항목 선정

이 연구는 우리나라 근로자건강진단 실무지침에 제시된 생물학적 노출지표 검사 항목이면서 아직 표준물질이 개발되지 않은 항목에 대한 표준물질을 개발하고자 하였으며, 2021년 ‘생물학적 노출평가 표준시료 개발(6)’ 연구 결과에 제시한 표준시료 개발 장기계획에 따라서 소변 중 TTCA를 표준시료 개발 항목으로 선정하였다.

이황화탄소는 원진레이온 사고의 원인 물질로 작업환경측정대상이며, 2013년부터 2021년까지 작업환경측정 결과는 1,569건이 보고되었고 이황화탄소 노출 평가를 위한 생물학적 노출지표인 TTCA는 권장항목이라서 특수건강진단 결과로는 보고되지 않고 있다. 그러나 여전히 작업환경측정기관에서 작업환경시료 분석에 이황화탄소를 추출 용매로 사용하고 있고, 많은 실험실이 시료에서 발생하는 이황화탄소 기체를 배기할 수 있는 적절한 구조의 배기장치를 설치하지 않아 실험실과 인접 사무실 근로자의 만성 노출이 우려된다. 따라서 주로 작업환경측정기관에서 일하는 근로자의 건강 보호를 위한 생물학적 노출평가를 위해 이황화탄소 노출 평가를 위한 생물학적 노출평가에 사용할 수 있는 표준시료 개발이 필요하다.

〈표 II-1〉 표준시료 개발 장기 계획

연도	항목	근거
2022	소변 중 TTCA	• 이황화탄소의 생물학적 노출지표 • 생물학적 노출검사 권장항목
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	”

〈표 II-2〉 이황화탄소의 작업환경측정 결과

연도	자료수	노출기준* 초과	허용기준** 초과	불검출(0)
2013	76	4	6	45
2014	99	1	3	73
2015	142	2	4	96
2016	149	6	8	115
2017	155	-	2	131
2018	192	-	-	157
2019	215	-	-	191
2020	250	-	-	216
2021	291	-	-	238
계	1,569	13	23	1,262

* 노출기준 1 ppm

** 허용기준 0.5 ppm

2. 표준시료 조제

사람의 소변 중 포함되어 있을 수 있는 방해 물질이 분석에 방해를 주는 경우를 막기 위하여 인공소변을 사용하여 표준시료를 조제하였다.

소변 중 TTCA의 농도는 고용노동부 고시 근로자건강진단 실무지침 상 소변 중 TTCA의 생물학적 노출지표 노출기준값인 0.5 mg/L의 1/2, 1, 2 배 범위로 계획하였다. TTCA 표준시약 10 mg을 10 mL 갈색 용량플라스크에 취하고 메탄올 1 mL를 가해 녹인 후 인공소변으로 표선을 채워 1,000 mg/L 용액을 조제하였다. 1,000 mg/L 용액 2 mL를 10 mL 갈색 용량플라스크에 취하고 물로 표선을 채워 200 mg/L 용액을 조제하고, 200 mg/L 용액 2.75 mL를 인공 소변 550 mL에 가하여 1 mg/L 용액을 조제하였다. 1 mg/L 용액 225 mL와 인공 소변 225 mL를 혼합하여 0.5 mg/L 용액을 450 mL 조제하였다. 0.5 mg/L 용액 150 mL와 인공 소변 150 mL를 혼합하여 0.25 mg/L 용액 300 mL를 조제하였다.

조제한 시료를 Simport사(캐나다)의 5 mL 저온보관용 바이알에 4.5 mL 씩 소분하여 균질성과 안정성 확인에 사용하였다.

3. 분석 방법

1) 시약 및 장비

TTCA, 염화나트륨, 염산, 초산, 디메틸에테르, 메탄올. 아세토니트릴은 Sigma-Aldrich사(미국) 제품을 구매하여 사용하였다. 인공소변은 Biozoo biological supply사(한국)의 simulated urine(normal pH)을 사용하였다. 탈이온수는 Millipore사(미국)의 Milli-RO와 Milli-Q water system으로 실험실에서 만들어 사용하였다.

소변 중 TTCA 분석에는 Agilent사(미국)의 초고성능액체크로마토그래프/자외부검출기를 사용하였다. 분석용 컬럼은 Phenomenex사(미국)의 Luna 5u C18 컬럼(2.0 x 150 mm, 5 μ m 입경)을 사용하였다.

2) 시약 조제

(1) 표준용액

TTCA 표준시약 10 mg을 10 mL 갈색 용량플라스크에 취하고 메탄올 1 mL를 가해 녹인 후 인공소변으로 표선을 채워 1,000 mg/L 용액을 조제하고, 1,000 mg/L 용액 2 mL를 10 mL 갈색 용량플라스크에 취하고 인공소변으로 표선을 채워 200 mg/L 용액을 조제하였다. 200 mg/L 용액 150 μ L를 25 mL 용량플라스크에 넣고 물로 표선을 채워 1.2 mg/L 용액을 조제하였다. 1.2 mg/L 용액 0.8, 3.3, 6.7 mL를 10 mL 용량플라스크에 각각 넣고 인공소변을 넣고 표선을 맞추어 0.1, 0.4, 0.7 mg/L 표준용액을 조제하고 0.1 - 1.2 mg/L 범위의 검량선 작성에 사용하였다. 인공소변을 공시료로 사용하였다.

(2) 고성능액체크로마토그래피 이동상

아세트니트릴과 0.2% 초산 수용액(pH 3.0)을 각각 0.2 μ m 여과막으로 여과하여 고성능액체크로마토그래피 이동상을 만들었다.

3) 시료 및 표준용액 전처리 과정

1.5 mL의 소변을 15 mL 마개달린 유리 시험관에 옮기고, 염화나트륨 1g, 염산 0.1 mL를 가하고 마개를 닫은 후 1분간 섞었다. 시험관 마개를 열고 1 mL의 클로로포름을 가하고 1분 흔들어 TTAC를 추출하였다. 혼합액은 3000g

에서 5분간 원심분리한 후, 유기층을 취하여 10 mL 마개달린 바이알에 옮기고 증발건조기에서 30℃에서 건조하였다. 잔사를 0.4 mL 메탄올에 녹인 후 물 1.2 mL를 넣고 섞은 용액을 0.2 μ m 여과 바이알에 넣어 HPLC용 검액으로 하였다.

4) 고성능액체크로마토그래프 자외부검출법

(1) 분석 조건

이동상 유속은 0.5 mL/분이었고, 이동상은 아세토니트릴과 0.1M 초산 수용액을 30:70으로 설정한 30% 아세토니트릴 초산 수용액을 사용하였다. 시료는 20 μ L 주입하였고, TTCA 검출을 위한 자외부검출기 파장은 273 nm였고, 시료 분석시간은 20분으로 설정하였다.

(2) 농도 계산

검량선용 표준용액 농도와 피크면적을 각각 x축, y축으로 하여 검량선을 작성하고, 회귀방정식 $y=ax+b$ 로부터 TTCA의 농도(mg/L)를 계산하였다.

5) 분석방법 신뢰도 조사

(1) 직선성

TTCA 0.1 - 1.2 mg/L 범위에서 TTCA의 농도, 피크면적을 이용하여 검량선을 작성하고 상관계수를 구하여 검량선의 직선성을 확인하였다.

(2) 검출한계

검량선 작성 자료를 이용한 통계적 방법으로 TTCA의 농도와 검출값의 상

관계수로부터 분석방법의 검출한계를 산출하였다(AIHA,1988).

$$LOD = 3 \times \frac{\sqrt{\frac{\sum(Y_{ei} - Y_i)^2}{(N-2)}}}{b}$$

Y_{ei} : 회귀방정식에서 구한 각 시료농도에 대한 반응값

Y_i : 각 시료 농도에 대한 반응값

N : 표준용액 시료 수

b : 회귀방정식의 x계수

(3) 정밀도

3 개 농도의 시료를 각각 3 회 반복 분석하여 일중 정밀도를 산출하고, 다른 날 구한 일중 정밀도 자료로부터 일간 정밀도를 산출하였다.

(4) 정확도

인공 소변에 TTCA 표준용액을 혼합하여 TTCA 첨가 시료를 만들고 첨가 시료를 3회 분석하여 회수율을 계산하여 정확도 결과로 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 단위 간에 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.

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. 통계 처리를 위하여 온도, 보관 기간별로 같은 농도의 다른 바이알 시료를 3개씩 분석하고, 95% 신뢰수준에서 안정성을 평가하였다.

Ⅲ. 연구결과

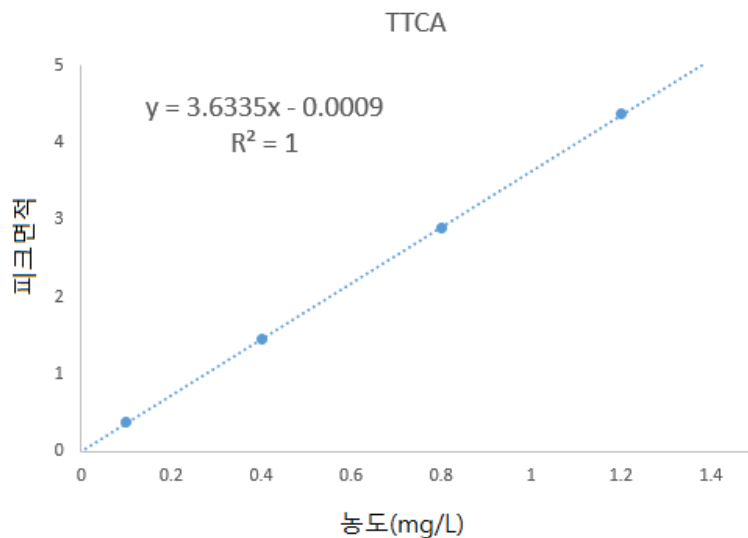


Ⅲ. 연구결과

1. 분석방법 신뢰도

1) 직선성

TTCA 0.1 - 1.2 mg/L 범위에서 검량선의 상관계수는 0.9999로, 검량선 범위에서 직선성이 양호하였다.



[그림 Ⅲ-1] TTCA 표준용액의 검량선 예시

2) 검출한계

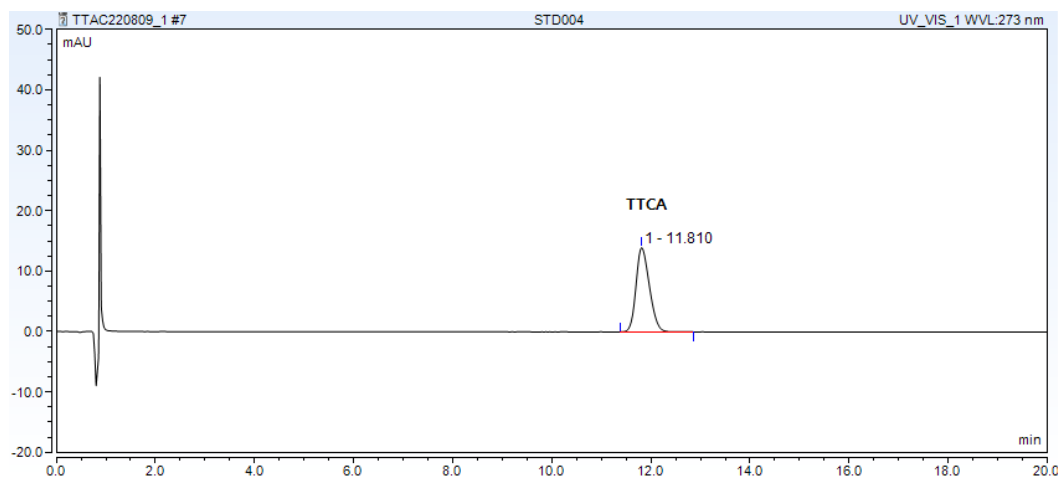
검량선 작성 자료를 이용하여 분석방법의 검출한계를 통계적 방법으로 산출한 결과는 0.01mg/L였고 정량한계는 0.04 mg/L로, 노출 기준이 0.5 mg/L 인 TTCA 분석에 적용 가능하였다.

3) 정밀도

소변 중 TTCA 3개 시료를 각각 3 회 분석한 값으로부터 구한 정밀도는 평균 4.0%였다.

4) 정확도

소변 중 TTCA를 분석한 값으로부터 구한 평균 회수율은 90%였다.



[그림 III-2] TTCA 표준용액의 HPLC/UV 크로마토그램 예시(1.2 mg/L)

2. 표준시료 신뢰도

1) 균질성 평가

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〉 TTCA 첨가 시료 균질성 평가

시료	분석값 평균($\mu\text{g/L}$)	F 값
1	0.23	2.178
2	0.47	1.235
3	0.95	1.720

2) 안정성 평가

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

TTCA 표준시료를 영하 20도와 영하 80도에서 보관한 표준시료의 안정성은 양호하였으며, 저농도인 $0.23 \mu\text{g/L}$ 표준용액은 상온과 냉장 보관 시 시료 안정성이 낮았다. 따라서, 채취한 시료는 분석 1주일까지는 냉장 보관 시 안정하지만, 시료 채취 1주일 이후에 시료를 분석한다면 냉동보관이 필요하였다.

〈표 III-2〉 TTCA 첨가 시료 안정성 평가

보관조건	농도 1 RT±U _{RT}		농도 2 RT±U _{RT}		농도 3 RT±U _{RT}	
조제당일	0.984	1.045	0.971	1.001	0.996	1.001
-80℃, 7일경과	0.909	1.060	0.978	1.008	1.000	1.014
-80℃, 30일경과	0.940	1.002	0.953	1.005	0.996	1.011
-20℃, 7일경과	0.998	1.060	0.978	1.008	0.992	1.022
-20℃, 30일경과	0.955	1.016	0.953	1.005	0.989	1.004
4℃, 7일경과	0.903	1.010	0.953	1.005	0.971	1.001
4℃, 30일경과	0.853	0.915	0.932	1.012	0.977	1.002
RT, 7일경과	0.868	0.929	0.934	0.995	0.977	1.002
RT, 30일경과	0.592	0.654	0.846	0.899	0.977	1.000

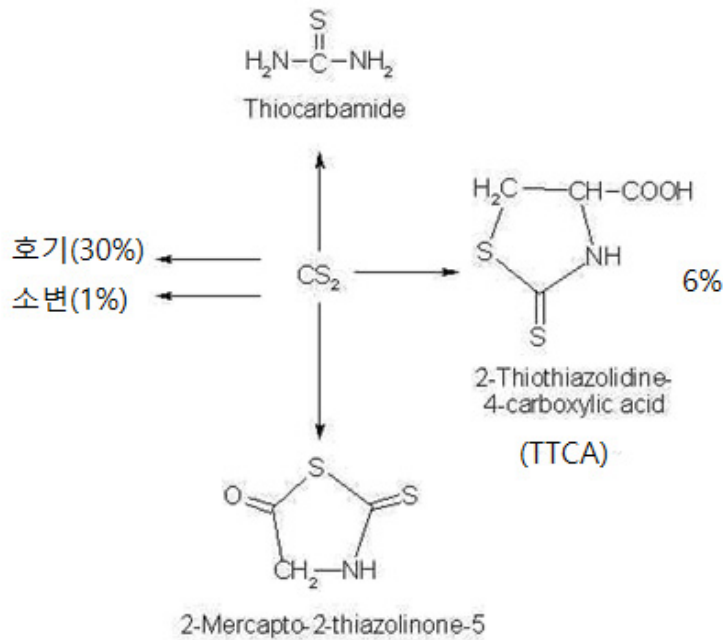
IV. 고찰 및 결론



IV. 고찰 및 결론

1. 고찰

이황화탄소(CAS No. 75-15-0)는 고용노동부에서 지정한 관리대상유해물질로, 레이온 섬유나 사염화탄소 제조에 사용되는 유기용제이며, 석유나 석탄 정제과정에서 발생하고, 유기용제 노출평가를 위한 작업환경측정 시료의 탈착 용매이다.



[그림 IV-1] 이황화탄소의 대사, 배설 과정

이황화탄소는 호흡기, 피부, 입을 통해 흡수되며, 몸에 흡수된 이황화탄소는 지방 조직, 간, 뇌로 이동하여 몸에 축적될 수 있다. 흡수된 이황화탄소는

30%가 폐로 다시 나가고, 1%는 원래의 이황화탄소가, 그리고 70% 이상은 간에서 대사를 거친 수용성 물질이 소변으로 배설된다(그림 IV-1). 몸에 흡수된 이황화탄소의 약 6%가 TTCA의 형태로 소변으로 배설된다(Van Doorn R 등, 1981).

그러나 양배추 등의 식품을 먹거나 황을 포함한 약물을 복용한 후에 소변에서 TTCA가 노출기준 이상 검출된 예가 있어, TTCA를 이황화탄소 노출 지표로 사용하는 경우는, 식품, 약물, 그리고 알콜에 의한 방해에 주의해야 한다(Hu 등, 2014).

이황화탄소는 1990년대 원진레이온에서 발생한 직업성 질환의 원인물질로, 원진레이온이 폐업한 이후 이황화탄소는 사염화탄소 제조나 분석실험실에서 사용하고 있다. 한편, 근로자는 석유나 석탄 정제 공정에서 발생하는 이황화탄소에 노출될 수 있어, 분석실험실이나 석유화학공장 등에서 이황화탄소 노출되는 근로자의 건강 보호를 위해 작업환경측정을 실시한다.

〈표 IV-1〉 이황화탄소의 나라별 작업환경 노출기준

	한국	미국	일본	영국	독일	핀란드	유럽
노출기준 (mg/m ³)	3	3	3.13	15	16	15	15
개정연도	(2016)	(2006)	(2015)	(2005)	(2015)		(2008)

〈표 IV-2〉 이황화탄소의 나라별 생물학적 노출기준

	한국	미국	독일	유럽
노출기준 (mg/g 크레아티닌)	0.5	0.5	2	15
개정연도	(2020)	(2018)	(2017)	(2008)

미국 ACGIH(American conference of governmental industrial hygienists, 미국산업위생가협회)는 이황화탄소 노출기준을 20 ppm(1946) → 10 ppm(1980) → 1 ppm(2006)의 순으로 강화하였고, 이황화탄소의 생물학적 노출기준도 5 mg/g 크레아티닌(1988)에서 0.5 mg/g 크레아티닌(2018, 제안 2009)으로 강화하였다.

고용노동부는 이와 같은 이황화탄소의 노출기준 강화를 국내 화학물질 노출평가에 반영하여 이황화탄소의 작업환경측정 노출기준을 10 ppm(2009) → 1 ppm(2016)으로 변경하였다. 이황화탄소 노출 근로자의 생물학적 노출평가를 위한 권장 노출기준은 5 mg/g 크레아티닌이었으나, 2016년 이황화탄소의 작업환경측정 노출기준 강화와 함께 2020년부터 미국 ACGIH의 노출기준인 0.5 mg/g 크레아티닌으로 근로자건강진단 실무지침의 권장 노출기준을 변경하였다.

우리나라에서 2013년부터 2021년까지 수행한 이황화탄소 작업환경 측정 대상 중에서 분석실험실이 전체 측정의 60%를 차지하고 있었으며, 2013년부터 2017년 사이에 19건이 이황화탄소 허용 기준인 0.5 ppm을 초과하였다. 한편, 이황화탄소가 0.1 ppm 이상인 측정 결과가 매년 4건 이상 보고되었고, 2021년에는 27건으로 9년간 99건의 측정 결과가 0.1 ppm 이상으로, 이와 같은 결과에서 저농도의 이황화탄소에 장기간 노출되는 분석실 종사자의 건강 이상이 우려된다. 대부분의 분석실험실은 사용하는 이황화탄소 분석장비로부터 발생하는 이황화탄소 기체를 실험실 밖으로 배출하는 배기구의 위치가 이황화탄소 발생 장소와 떨어져 실험실 근로자와 실험실과 통해 있는 사무실 근로자가 모두 저농도의 이황화탄소에 노출될 위험이 있다.

이 연구에서 제시한 이황화탄소의 생물학적 노출평가 시료를 분석실험실 종사자의 이황화탄소 노출 현황 조사에 활용하여, 이황화탄소를 포함한 유기용제 노출 감소를 위한 작업 환경과 업무 개선의 근거로 활용할 것을 제안한다(그림 IV-2). 한편, 이를 위해서는 특수건강진단기관의 적극적인 참여가 필요하지만, 현행 분석정도관리의 선택항목으로 참가하기에는 부적합의 부담이

커서 참여가 어려우므로, 특수건강진단기관의 자율적인 참가를 유도하는 자율항목의 재도입이 선행되어야 할 것이다.



[그림 IV-2] 유기용제 분석장비 배기설비 개선 예시

2. 결론

이황화탄소의 생물학적 노출지표인 소변 중 TTCA 표준시료를 조제하고 안정한 보관 온도와 기간을 조사하여, 근로자 건강진단을 위한 생물학적 노출 평가의 활용성이 양호함을 확인하였다.

한편, 소변 중 TTCA의 국내 생물학적 노출기준을 포함한 3개 농도의 표준시료를 조제하는 방법과 시료를 분석하는 방법을 제시하여 분석실험실 종사자가 이황화탄소 노출 평가 실무에 연구 결과를 활용할 수 있도록 하였다.

이황화탄소를 포함한 유기용제 노출 감소를 위한 작업 환경과 업무 개선의 근거 자료를 확보하는데 이 연구 결과를 활용할 수 있을 것으로 기대한다. 결론

참고문헌

안규동 등. 생물학적 노출평가 기준 및 분석방법 연구 I. 산업보건연구원 연구원 2010-65-880, 한국산업안전공단; 2010.

양정선. 복합유기용제 및 중금속 폭로 근로자의 생물학적 모니터링에 관한 연구: 생물학적 모니터링에 관한 분석의 정도관리 프로그램. 산업보건연구원 연구자료 센터 95-4-21, 한국산업안전공단; 1995.

근로자건강진단실무지침. 한국산업안전보건공단; 2021.

산업안전보건법, 고용노동부;2022

한국표준과학연구원;2004. <http://crm.kriss.re.kr/>

BAM;2004. <http://www.comar.bam.de/>

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

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

EC. Guidelines for the production and certification of BCR reference materials : document BCR/01/97: European Commission; 1997.

G-EQUAS;2018. <http://www.g-equas.de/>

Working Group Analytical Chemistry, edited by J. Angerer and K.H. Schaller, Analyses of Hazardous substances in biological materials, 1994

IAEA;2004. <http://www-naweb.iaea.org/nahu/nmrm/default.shtm>

ILAC. Guidelines for the requirements for the competence of reference materials producers: ILAC -G12:2000: ILAC; 2000.

ISO.Certification of Reference Materials--General and Statistical Principles: ISO Guide 35: ISO; 1989

ISO. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.: ISO/IEC 17025: ISO; 1999

ISO. The role of reference materials achieving quality in analytical chemistry: ISO 2000-01/1000: ISO; 2000.

Daemen E, Van Risseghem M, De Bacquer D, Bulat P, Braeckman L, Vanhoorne M. Preliminary External Quality Assessment for the Biological Monitoring of Carbon Disulfide with Urinary 2-Thiothiazolidine-4-Carboxylic Acid. *Ann occup Hyg.* 43:125-30; 1999.

Hu J, Tan Z, Mazereeuw and O'Donnell G, Evaluation of low-level carbon disulfide exposure in a chemical analysis laboratory using air and biological monitoring methods: *Australian & New Zealand J. Health, safety and environ.* 30(1): 1-10; 2014

Lawn R, Roper P, Holcombe G, Stuart B. Application notes for the production of low-cost quality control matrix reference materials: LGC/VAM/2001/010: VAM; 2000.

Lawn R, Roper P, Holcombe G, Stuart B. Low-cost QC laboratory reference materials-Investigation of cost-effective production

- procedures: LGC/VAM/2001/009: LGC; 2001.
- Lehtinen S. Biological monitoring of chemical exposure in the workplace. WHO. p.205-217; 1996.
- Linsinger TPJ, Pauwels J, van der Veen AMH, Schimmel H, Lamberty A. Homogeneity and stability of reference materials. *Accred Qual Assur.* 6:20-25; 2001.
- Love J. Reference materials-a view from a small country. *Fresenius J Anal Chem.* 370:160-63; 2001.
- Pauwels J, Lamberty A. CRMs for the 21st century: new demands and challenges. *Fresenius J Anal Chem.* 370:111-14; 2001.
- Rosier J, Van Doorn R, Grosjean R, Walle AV, Billemont G, Petegham V. Preliminary evaluation of urinary 2-thio-thiazolidine-4-carboxylic as a test for exposure to carbon disulfide, *Int Arch Occup Environ Health.* 51:159-67; 1982.
- Thienpont LM, Depourcq GC, Nelis HJ, De Leenheer AP. Liquid chromatographic determination of 2-thiothiazolidine-4-carboxylic acid isolated from urine by affinity chromatography on organomercurial agarose gel. *Analytical chemistry.* 62:2673-75; 1990.
- Van Doorn R, Delbressine LP, Leijdekkers CM, et al. Identification and determination of 2-thiothiazolidine-4-carboxylic acid in urine of workers exposed to carbon disulfide. *Arch Toxicol.* 47:51-8; 1981.

Abstract

Development of biological reference material for proficiency test program - Urinary TTCA as bio-marker of carbon disulfide

Objectives : The author developed reference material of urinary TTCA(2-thiothiazolidine-4-carboxylic acid) to enhance analytical ability of laboratories in industrial health for them to apply this reference material for internal proficiency test on biological monitoring of workers exposed to carbon disulfide.

Method : The author prepared 3 concentration levels of TTCA spiked samples. The homogeneity and stability of these samples were checked up to 30 days considering storage temperature conditions. The analytical method was ultra performance liquid chromatography/ultraviolet detection.

Results : The samples' homogeneity at confidence level of 95% was acceptable. The recovery of TTCA up to 30 days were acceptable except storage at room temperature.

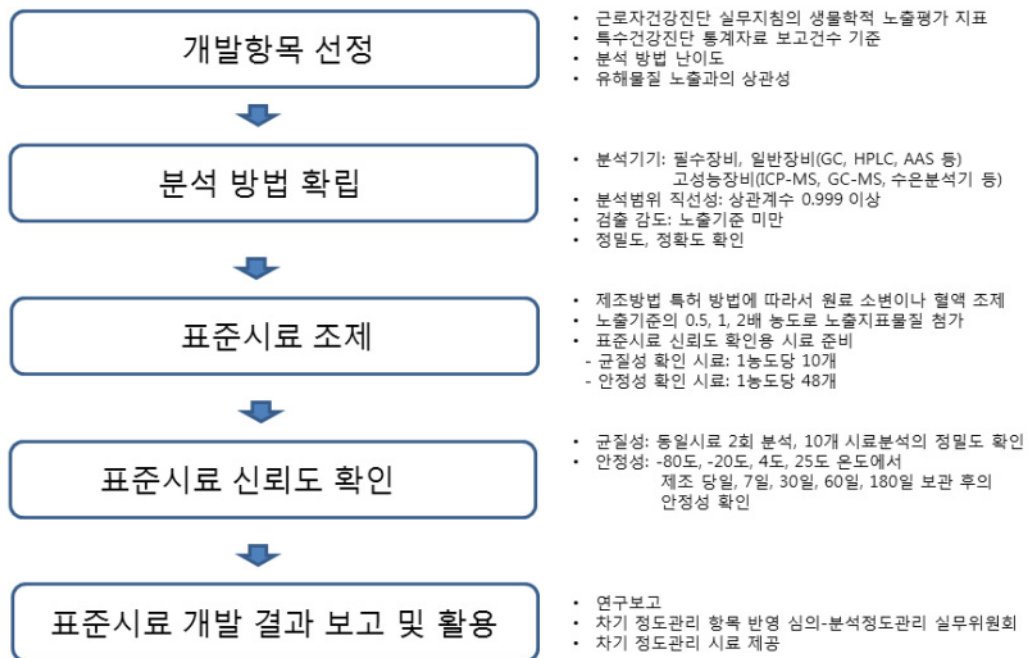
Conclusion : The credibility of urinary TTCA was confirmed by stability and homogeneity. This item will be applied for proficiency test of

laboratories performing biological monitoring of workers exposed to carbon disulfide.

Key words : proficiency test, urinary TTCA, carbon disulfide, reference material

부 록

부록 1: 정도관리 표준시료 개발 과정



[그림 부록-1] 정도관리 표준시료 개발 단계 및 세부 수행 사항

부록 2: 균질성 평가(BAM,2004)

분석법의 반복성 표준편차를 S_a , n 개 단위를 분석했을 때 관측된 표준편차를 S_o , 단위간 표준편차를 S_b , 분석 표준편차를 S_a '라 하고,

n 개 단위를 취하여 2회씩 반복분석하면 S_a 값은 다음과 같이 계산된다.

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

여기서 d 는 2회 반복분석했을 때 두 분석값의 차이이다.

S_o 값은 n 개의 평균값으로부터 구해진 표준편차이다.

그러면 S_b 는 다음 식으로 계산된다.

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

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

S_b 와 S_a '가운데 더 큰 값을 존재할지도 모르는 비균질성으로 인한 표준 불확도 u_{hom} 로 채택한다.

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

확장불확도 U_{hom} 는

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

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

% 확장불확도는

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

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

	Sum of squares	df	Mean square	F
Between units	$h \sum_i (\bar{x}_i - \bar{x})^2$	$n-1$	$\frac{\text{Sum of squares}}{df}$	$\frac{\text{Mean square}_{\text{between}}}{\text{Mean square}_{\text{within}}}$
Within units	$\sum_i \sum_j (x_{ij} - \bar{x}_i)^2$	$n(h-1)$	$\frac{\text{Sum of squares}}{df}$	—
Total	$\sum_i \sum_j (x_{ij} - \bar{x})^2$	$hn-1$	—	—

부록 3: 안정성 평가(BAM,2004)

표준시료를 제조 직후 N_{ref} 번 반복분석했을 때의 평균값을 C_{refm} , 표준편차를 S_{ref} 라 하고; T °C에서 보관한 표준물질을 N_T 번 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

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

평균값 C_{Tm} 의 표준편차 S_{Tm} 은

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

R_T 의 표준편차 S_{R_T} 는

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

R_T 의 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

연구책임자 : 이미영 (선임연구위원, 직업건강연구실)

연구기간

2022. 01. 07. ~ 2022. 11. 30.

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

산업안전보건연구원장

**이황화탄소의 생물학적 노출 평가 표준 시료 개발
(2022-산업안전보건연구원-732)**

발 행 일 : 2022년 11월 30일

발 행 인 : 산업안전보건연구원 원장 김은아

연구책임자 : 직업건강연구부 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 : 979-11-92782-08-9

공공안심글꼴 : 무료글꼴, 한국출판인회의, Kopub바탕체/돋움체