

연구보고서

생물학적 노출평가 표준시료 개발(3)

— 톨루엔의 생물학적 노출평가를 위한
소변 중 o-크레졸

이미영·이혜지·김은아

산업재해예방

안전보건공단

산업안전보건연구원



요 약 문

연구기간

2018년 1월 ~ 2018년 11월

핵심단어

특수건강진단 분석정도관리, 소변 중 o-크레졸, 표준 시료, 균질성, 안정성

연구과제명

생물학적 노출평가 표준시료 개발(3) - 톨루엔의 생물학적 노출평가를 위한 소변 중 o-크레졸

1. 연구배경

특수건강진단기관 분석정도관리는 1995년 혈액 중 납과 소변 중 마요산 등 2 항목으로 시작하였고 2018년 현재 유기 분석 11 항목, 무기 분석 7 항목으로 총 18 항목을 분석정도관리 항목으로 운영하여 유해화학물질의 생물학적 노출평가 분석 신뢰도를 높이는데 기여하고 있다. 연구원에서는 2005년까지 총 15항목의 정도관리 표준시료를 개발하여 정도관리에 활용하였으며, 2015년부터 연차적으로 국내 생물학적 노출 평가에 필요한 분석 항목을 추가로 개발하였다. 본 연구는 국내 생물학적 노출 평가 수행 항목 추가가 필요한 항목을 선정하여 분석정도관리 활용을 위한 표준 시료를 개발하고, 이를 분석정도관리에 활용하고자 하였다.

2. 주요 연구내용

- 연구결과

정도관리 항목 개발과 특수건강진단 실무 활용성을 고려하여 톨루엔의 특수건강진단 생물학적 노출 평가 권장항목인 소변 중 o-크레졸

을 본 연구의 표준시료 개발 대상으로 선정하였다. 소변 중 o-크레졸을 가스크로마토그래프-질량분석기로 분석하였고 o-크레졸 표준 시료의 균질성을 조사한 결과, 조제한 3 가지 농도 시료를 모두 균질하게 조제하였음을 확인하였다. 시료를 조제한 후 25 ℃, 4 ℃, -20 ℃, -80 ℃에서 1 주일, 1 개월이 경과한 시점의 안정성을 조사한 결과, 조제한 표준시료는 모두 1 개월까지 큰 농도 변화를 보이지 않았다. 이상의 결과로부터 소변 중 o-크레졸 표준 시료의 신뢰도를 확인하였다.

- 시 사 점

신규로 소변 중 o-크레졸을 특수건강진단 분석정도관리 항목에 추가하여 향후 톨루엔의 노출 지표로 o-크레졸 적용을 위한 분석 신뢰도 확인에 활용하면 특수건강진단기관의 효율적인 수행에 중요한 역할을 할 것이 예상된다.

3. 연구 활용방안

본 연구 결과를 근거로 특수건강진단기관 정도관리 항목에 소변 중 o-크레졸을 추가하여 정도관리 사업에 연구 결과를 직접적으로 활용함으로써 톨루엔 노출 근로자의 생물학적 노출 평가의 신뢰도 향상 및 이를 통한 근로자의 건강 보호에 기여한다.

4. 연락처

- 산업안전보건연구원 직업건강연구실 이미영

■ ☎ 052) 703 - 0873

■ E-mail: cookmom@kosha.or.kr

본 문 차 례

I. 서 론	1
1. 연구 배경	1
2. 연구 목적	9
II. 연구방법	11
1. 개발 항목 선정	11
2. 표준 시료 조제	11
3. 실험 방법	13
4. 표준 시료 신뢰도	17
III. 연구결과	19
1. 통계 자료 현황	19
2. 분석 방법 신뢰도	21
3. 표준시료 신뢰도	23
IV. 고찰 및 결론	25
참고문헌	29
Abstract	33
부 록	35
1. 표준시료 개발 과정	35
2. 균질성 평가	36
3. 안정성 평가	38
4. 소변 중 o-크레졸의 가스크로마토그래프-불꽃이온화검출기 분석법	39

표 차 례

〈표 1〉 불확도에 의한 표준물질 구분	2
〈표 2〉 특수건강진단 분석정도관리 표준시료 개발 현황	3
〈표 3〉 유기화합물 생물학적 노출평가 1차 항목의 노출기준값 및 검사방법	4
〈표 4〉 유기화합물 생물학적 노출평가 2차 항목의 노출기준값 및 검사방법	5
〈표 5〉 유기화합물 생물학적 노출평가 권장 항목의 노출기준값 및 검사방법	6
〈표 6〉 금속류 생물학적 노출평가 1차 항목의 노출기준값 및 검사방법	6
〈표 7〉 금속류 생물학적 노출평가 2차 항목의 노출기준값 및 검사방법	7
〈표 8〉 금속류 생물학적 노출평가 권장 항목의 노출기준값 및 검사방법	7
〈표 9〉 가스 상태 물질류 생물학적 노출평가 항목의 노출기준값 및 검사방법	8
〈표 10〉 허가 대상 유해물질 생물학적 노출평가 권장 항목의 노출기준값 및 검사방법	8
〈표 11〉 o-크레졸 시료 조제 계획	12
〈표 12〉 가스크로마토그래프-질량분석기 분석 조건	15
〈표 13〉 톨루엔의 생물학적 노출 평가 실적	19
〈표 14〉 o-크레졸 첨가 표준 시료의 균질성 검토결과	23
〈표 15〉 o-크레졸 첨가 표준 시료의 안정성 검토 결과	24
〈표 16〉 o-크레졸 표준 시료의 실험실간 분석결과 비교	24
〈표 17〉 표준시료 개발 장기 계획	27
〈표 18〉 o-크레졸의 가스크로마토그래프-질량분석기 분석 조건	40

그림 차례

[그림 1] o-크레졸의 질량스펙트럼	14
[그림 2] 소변 중 마뇨산 농도별 자료 분포(2017)	20
[그림 3] o-크레졸의 검량선 예시	21
[그림 4] o-크레졸 분석 크로마토그램 예시	22
[그림 5] 정도관리 표준시료 개발 단계 및 세부 수행 사항	35

I. 서 론

1. 연구 배경

표준물질(RM, reference material)이란 “측정기기의 교정, 측정방법의 평가 또는 물질의 특성치를 결정하는데 기준으로 사용하는 것으로, 하나 이상의 특성치가 충분히 확정되어 있는 균질한 소재 또는 물질”로 정의된다 (ISO/IEC, 1992; 한국표준과학연구원, 2004).

표준물질의 정규적인 사용은 유효하고 신뢰할 수 있는 측정의 기초가 되며, 부정확한 측정에 뒤따르는 비용과 위험을 절감하게 해준다. 실험실적으로는 ISO/IEC 17025 [General requirements for the competence of testing and calibration laboratories, 시험 및 교정 기관의 자격에 대한 일반 요구사항]에서 표준물질의 사용에 대해 여러번 언급되고 있다(ISO, 1999). 산업분야에서, 과학 분야에서 표준물질의 중요성은 점점 높아지고 있다. 현대 세계에서는 다른 국가, 다른 실험실에서 나온 측정결과를 서로 비교할 수 있어야 하고 그 기초로 표준물질의 중요성이 점차 강조되어 왔다.

표준물질은 20세기 초에 독일과 영국에서 철강의 표준물질을 만든 것이 시초였고 1958년에는 ECSC(European Coal and Steel Community)의 Working Group 20에서 유럽내 협력이 시작되어 EURONORM이라는 표준물질을 만들게 되었다. 1950년대에는 핵에너지 시대가 열리면서 핵종 및 동위원소 표준물질 개발이 활발했고 1970년대에는 BCR(Bureau Communautaire de Référence, European Community Bureau of Reference)이 설립되어 70년대 말까지 주로 산업용 표준물질을 개발하였다. 1980년대가 되면서 환경 관련 표준물질의 개발이 활발해지고 1990년대 들어서는 수요분야가 폭발적으로 다양해졌다. 2000년대 들어서는 화학종 규명(speciation), 분획 구분(fractionation) 분석에 적용할

수 있는 표준물질이나 너무 반응성이 강하고 불안정해서 예전과 같은 개념으로는 생각할 수 없었던 표준물질의 개발도 시작되고 있다(Pauwels J, Lamberty A, 2001; Cornelis R, et. al, 2001).

표준물질은 불확도(uncertainty)에 따라 <표 1>과 같이 분류될 수 있다. 불확도가 작은 표준물질일수록 제조하여 검증하는 데에 많은 시간과 비용이 소요되며, 따라서 가격도 상승한다. 불확도가 작은 1차 표준물질은 측정 불확도 평가, 장비 교정 등에 사용되며 일상적인 내부정도관리와 측정법 확인에는 자체 또는 일상용 표준물질을 사용하는 것이 경제적이다(EA, 2003).

<표 1> 불확도에 의한 표준물질 구분

1차 표준물질 (Primary reference material)	불확도가 작다
2차 표준물질 (Secondary reference material)	↕
자체 또는 일상 표준물질 (In-house or working reference material)	불확도가 크다

표준물질 사용자는 용도에 맞는 적절한 표준물질을 선택해야 한다. 산업보건 분야에서 생물학적 모니터링을 위한 분석자가 표준물질을 선택할 때는 매질, 분석물질, 분석물질의 농도를 당연히 고려해야 할 것이고, 아울러 어느 정도의 정확도가 요구되는 분석인지, 분석결과가 어떻게 쓰일 것인지에 따라 적정 수준 불확도의 표준물질을 선택해야 할 것이다.

그러나 일반적으로 표준물질은 수요가 공급을 초과한다. 특히 공급되는 양에 관해서라기보다는 공급되는 표준물질의 다양성에 있어서 그러하다. 생물학적 모니터링을 위해 분석하게 되는 다양한 매질 속의 다양한 분석물질에 대한 꼭 맞는 표준물질이 모두 다 공급되지 못하고 있다.

지금까지 우리나라의 산업보건 분야 생물학적 모니터링용 표준물질 개발 현

황을 보면, 1995년에 산업안전보건연구원에서 특수건강진단 분석정도관리를 주관하게 되면서 우선 소변 중 마뇨산과 혈액 중 납 표준시료를 개발하였다(양정선, 1995). 이후 특수건강진단 분석정도관리를 계속하면서 추가 항목들이 개발되었다(<표 2>). 고용노동부 고시 근로자건강진단 실무지침에 제시된 노출지표 물질중 1차 노출지표물질은 유기화합물 14종 9항목, 금속류 4종 3항목, 가스 상태 물질류 1종 2항목으로 모두 19종 14항목이며 2차 지표물질은 유기화합물 14종 17항목, 금속류 9종 10항목, 산 및 알칼리류 1종 1항목, 가스 상태 물질류 2종 2항목, 영 제30조에 따른 허가대상물질 3종 3항목 등 총 29종 33항목으로(고용노동부, 2017), 아직 분석 항목에 대한 표준물질이 제공이 되지 못하는 항목들이 있다(<표 3~10>).

<표 2> 특수건강진단 분석정도관리 표준시료 개발 현황

연도	분석정도관리 추가 항목
1995	소변 중 마뇨산; 혈액 중 납
1996	소변 중 만델산, 메틸마뇨산; 혈액 중 카드뮴
1997	소변 중 페닐글리옥실산; 혈액 중 망간
1999	소변 중 엔메틸포름아미드(NMF); 소변 중 수은
2000	소변 중 삼염화초산, 총삼염화물)
2004	소변 중 묽콘산, 2,5-헥산디온; 소변 중 카드뮴
2008	소변 중 엔메틸아세트아미드(NMAC)
2015	소변 중 비소
2016	소변 중 o-크레졸
2017	소변 중 니켈

<표 3> 유기화합물 생물학적 노출평가 1차 항목의 노출기준값 및 검사 방법 : 유해물질 14 종의 생물학적 노출 평가 9 항목

유해 물질명	시료채취		지표물질명	권장분석법	노출기준	단위	비 고
	종류	시기					
p-니트로아닐린	혈액	수시	메트헤모글로빈	혈액가스분석	1.5	%	
p-니트로클로로벤젠	혈액	수시	메트헤모글로빈	혈액가스분석	1.5	%	
디니트로톨루엔	혈액	수시	메트헤모글로빈	혈액가스분석	1.5	%	
디메틸아닐린	혈액	수시	메트헤모글로빈	혈액가스분석	1.5	%	
N,N-디메틸아세트아미드	소변	당일	N-메틸아세트아미드	GC-NPD	30	mg/g crea.	정도관리항목
디메틸포름아미드	소변	당일	N-메틸포름아미드	GC-NPD	15	mg/L	"
메틸클로로포름 (1,1,1-트리클로로에탄)	소변	주말	삼염화초산	GC-ECD	10	mg/L	"
	소변	주말	총삼염화에탄올	GC-ECD	30	mg/L	
아닐린과 그 동족체	혈액	수시	메트헤모글로빈	혈액가스분석	1.5	%	
에틸렌 글리콜 디니트레이트	혈액	수시	메트헤모글로빈	혈액가스분석	1.5	%	
크실렌	소변	당일	메틸마노산	HPLC-UVD, GC-FID	1.5	g/g crea.	정도관리항목
톨루엔	소변	당일	마노산	HPLC-UVD, GC-FID	2.5	g/g crea.	"
트리클로로에틸렌	소변	주말	총삼염화물	GC-ECD	300	mg/g crea.	"
	소변	주말	삼염화초산	GC-ECD	100	mg/g crea.	"
퍼클로로에틸렌	소변	주말	삼염화초산	GC-ECD	5	mg/L	"
헥산(n-헥산)	소변	당일	2,5-헥산디온	GC-FID	5	mg/g crea.	"

(근로자건강진단실무지침, 2017)

<표 4> 유기화합물 생물학적 노출평가 2차 항목의 노출기준값 및 검사 방법 : 유해물질 14 종의 생물학적 노출 평가 17 항목

유해 물질명		시료채취		지표물질명	권장분석법	노출기준	단위	비 고
		종류	시기					
p-디메틸 아미노아조벤젠		혈액	수시	메트헤모글로빈	혈액가스분석	1.5	%	
디클로로메탄 (이염화메틸렌)		혈액	당일	카복시헤모글로빈	혈액가스분석	3.5	%	
메틸 n-부틸 케톤(메틸부틸케톤)		소변	당일	2, 5-헥산디온	GC-FID	5	mg/g crea.	정도관리항목
메틸 알코올		소변	당일	메탄올	HS GC-FID	15	mg/L	
		혈액	당일	에탄올	HS GC-FID			
메틸 에틸케톤		소변	당일	메틸에틸케톤	HS GC-FID	2	mg/L	
메틸이소부틸케톤		소변	당일	메틸이소부틸케톤	HS GC-FID	2	mg/g crea.	
벤젠	1 ppm 기준	소변	당일	뮤콘산	HPLC-UVD	1	mg/g crea.	정도관리항목
		혈액	당일	벤젠	HS GC-MSD	5	μg/L	
	10 ppm 기준	소변	당일	o-크레졸	GC-FID	50	mg/g crea.	정도관리항목
아세톤		소변	당일	아세톤	HS GC-FID	80	mg/L	
2-에톡시에탄올 (에틸렌 글리콜 모노에틸 에테르, 셀로솔브)		소변	주말	2-에톡시초산	GC-FID	100	mg/g crea.	
이소프로필알코올		혈액	당일	아세톤	HS GC-FID	50	mg/L	
		소변			HS GC-FID	50	mg/L	
콜타르		소변	당일	1-하이드록시파이렌	HPLC-FD	4.6	μg/L	
클로로벤젠		소변	당일	총 클로로카테콜	HPLC-UVD	150	mg/g crea.	
o-크레졸		소변	당일	o-크레졸	GC-FID	250	mg/g crea.	
펜타클로로o-크레졸		소변	주말	펜타클로로o-크레졸	HPLC-UVD	2	mg/g crea.	
		혈액	당일	유리펜타클로로o-크레 졸	HPLC-UVD	5	mg/L	

(근로자건강진단실무지침, 2017)

<표 5> 유기화합물 생물학적 노출평가 권장 항목의 노출기준값 및 검사 방법 : 유해물질 5 종의 생물학적 노출 평가 7 항목

유해 물질명	시료채취		지표물질명	권장분석법	노출기준	단위	비 고
	종류	시기					
벤젠(1 ppm 기준)	소변	당일	S-페닐머캅토산	GC-MSD	50	μg/g crea.	
스티렌	소변	당일	만델릭산+ 페닐글리옥실산	HPLC-UVD, GC-FID	600	mg/g crea.	정도관리항목
이황화탄소	소변	당일	TTCA	HPLC-UVD	5	mg/g crea.	
톨루엔(50 ppm기준)	소변	당일	o-크레졸	GC-FID	0.8	mg/L	
	혈액	당일	톨루엔	HS GC-FID	1	mg/dL	
퍼클로로에틸렌	혈액	주말	퍼클로로에틸렌	HS GC-FID	1	mg/dL	

(근로자건강진단실무지침, 2017)

<표 6> 금속류 생물학적 노출평가 1차 항목의 노출기준값 및 검사방법 : 유해물질 4 종의 생물학적 노출 평가 3 항목

유해 물질명	시료채취		지표물질명	권장분석법	노출기준	단위	비 고
	종류	시기					
납과 그 무기화합물	혈액	수시	납	AAS	30	μg/dL	정도관리항목
수은과 그 화합물	소변	작업전	수은	AAS	200	μg/L	"
4알킬연	혈액	수시	납	AAS	30	μg/dL	"
카드뮴과 그 화합물	혈액	수시	카드뮴	AAS	5	μg/L	"

(근로자건강진단실무지침, 2017)

**<표 7> 금속류 생물학적 노출평가 2차 항목의 노출기준값 및 검사방법
: 유해물질 9 종의 생물학적 노출 평가 12 항목**

유해 물질명	시료채취		지표물질명	권장분석법	노출기준	단위	비 고
	종류	시기					
납과 그 무기화합물	소변	수시	납	AAS	150	μg/L	
	혈액	수시	ZPP	hematoflurometer	100	μg/dL	
	소변	수시	δ-ALA	HPLC · UV	5	mg/L	
니켈과 그 화합물	소변	주말	니켈	AAS	80	μg/L	정도관리항목
삼산화비소	소변	주말	비소	AAS	220	μg/L	“
수은과 그 화합물	혈액	주말	수은	AAS	15	μg/L	
안티몬과 그 화합물	소변		안티몬				
4알킬연	소변	수시	납	AAS	150	μg/L	
	혈액	수시	ZPP	hematoflurometer	100	μg/dL	
	소변	수시	δ-ALA	HPLC · UV	5	mg/L	
오산화바나듐 (분진 및 흡만 해당)	소변	주말	바나듐	AAS	50	μg/g crea.	
카드뮴과 그 화합물	소변	수시	카드뮴	AAS	5	μg/g crea.	정도관리항목
	소변		β2-마이크로글로불린		300	μg/g crea.	
크롬과 그 화합물	소변	주말	크롬	AAS	30	μg/g crea.	
	혈액		크롬				

(근로자건강진단실무지침, 2017)

<표 8> 금속류 생물학적 노출평가 권장 항목의 노출기준값 및 검사방법

유해 물질명	시료채취		지표물질명	권장분석법	노출기준	단위	비 고
	종류	시기					
망간과 그 화합물	혈액	당일	망간	AAS	36	μg/L	정도관리항목

(근로자건강진단실무지침, 2017)

<표 9> 가스 상태 물질류 생물학적 노출평가 항목의 노출기준값 및 검사 방법: 유해물질 3 종의 생물학적 노출 평가 4 항목

구분	유해 물질명	시료채취		지표물질명	권장분석법*	노출기준	단위	비고
		종류	시기					
1차	일산화탄소	혈액	당일**	카복시 헤모글로빈	혈액가스분석	5	%	
		호기		일산화탄소	일산화탄소측정기	40	ppm	
2차	브롬	혈액		브로마이온				
	삼수소화비소	혈액	주말	비소	AAS		μg/dL	
		소변	주말	비소	AAS		μg/L	정도관리항목

(근로자건강진단실무지침, 2017)

<표 10> 허가 대상 유해물질 생물학적 노출평가 권장 항목의 노출기준값 및 검사방법: 유해물질 3 종의 생물학적 노출 평가 3 항목

유해 물질명	시료채취		지표물질명	권장분석법*	노출기준	단위	비 고
	종류	시기					
비소 및 그 무기화합물	소변	주말	비소	AAS	220	μg/L	정도관리항목
휘발성 콜타르피치(코크스 제조 또는 취급업무)	소변	주말	1-하이드록시파이렌	HPLC-UV	46	μg/L	
황화니켈	소변	주말	니켈	AAS	80	μg/L	

(근로자건강진단실무지침, 2017)

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, 2018). 한편, 캐나다 퀘벡 국제정도관리는 무기분석 19항목에 대해 정도관리 생체 시료를 제공하여 중금속 정도관리를 실시하고 있다(PCI, 2018).

본 연구에서는 우리나라 근로자건강진단 실무지침에 제시된 생물학적 노출 지표검사 항목이면서 아직 표준물질이 개발되지 않은 항목에 대한 표준물질을

개발하고자 하였다. 본 연구에서는 톨루엔의 노출지표로 지정된 소변 중 o-크레졸을 선정하여 개발을 진행하였다. 소변 중 o-크레졸은 산안법상으로는 생물학적 노출평가의 노출지표물질로 지정되어 있지 않으나 근로자건강진단 실무지침에 권장항목으로 제안하고 있으며 아직 국내 정도관리를 위한 표준물질이 개발되어 있지 않다.

개발한 표준물질은 실험실간 비교를 통한 외부정도관리 및 실험실의 일상적인 분석시 내부정도관리를 위해 사용되는 것을 목적으로 하였다. 본 연구에서 개발한 표준물질은 <표 1>의 분류 중 자체 또는 일상 표준물질(In-house or working reference material)에 해당하며, 연구진은 표준시료의 균질성과 안정성을 입증하여 정도관리 표준시료로서의 신뢰도를 확인하고자 연구를 수행하였다.

2. 연구 목적

본 연구에서는 근로자 건강진단 실무지침 상의 검사항목 항목 중, 아직 국내 표준시료가 개발되어 있지 않아 시료 분석의 정확도를 확인하지 못하고 있는 항목인 소변 중 o-크레졸 표준시료를 자체 개발하고자 하였다. o-크레졸을 첨가한 표준시료를 제조하고, 이 시료가 정도관리에 사용하기에 적합한 안정성과 균질성을 가지고 있음을 증명하는 것이 본 연구의 목적이다. 개발한 소변 중 o-크레졸 표준시료를 향후 국내 특수검진기관 분석정도관리에 응용함으로써 이 항목에 대한 국내 산업보건 관련 분석실험실의 분석 숙련도를 향상시키는데 기여하고자 하였다.

Ⅱ. 연구 방법

1. 개발 항목 선정

특수건강진단 생물학적 노출평가 대상 항목 중 분석정도관리 시료로 추가가 필요한 항목을 전문가 회의 의견을 참조하여 검토하였다. 2017년 특수건강진단 개선 회의에서 톨루엔의 생물학적 노출 지표인 소변 중 마뇨산의 대체 항목으로 제시된 o-크레졸의 표준시료 개발이 시급하다고 판단하였고, 전문가 회의에서 특수검진 생물학적 노출 평가 권장 항목인 o-크레졸의 정도관리 항목 개발과 특수검진 업무 활용성이 적절하다고 검토하였다.

2. 표준 시료 조제

지표물질을 첨가할 균질한 바탕(blank) 소변 풀(pool)은 기존에 확립되어 있는 방법에 따라 준비하였다 (양정선, 1995).

직업적으로 비소에 노출되지 않은 공단 직원의 소변으로부터 균질한 표준시료 제조용 원료 소변(urine pool)을 기존에 확립되어 있는 방법에 따라(양정선, 1995; 양정선 등, 1998) 조제하였다. 건강한 성인 여성의 소변을 채취하여 0.1%의 농도를 유지하도록 sodium azide를 가하였다. 소변에 초산을 가하여 pH를 5.5로 조정 후 초저온 냉동고에 보관하였다. 얼린 소변을 해동하여 8 µm 여과지(Whatman grade 2V, 미국)를 통과시켜 침전을 제거한 후 다시 초저온 냉동고에 보관하였다. 이를 다시 해동하여 여과하는 과정을 총 3 회 반복한 후, 이 소변을 0.45 µm membrane filter로 여과한 여액을 이용하여 표준 시료를 조제하였다.

소변 중 o-크레졸의 농도는 노동부 고시 근로자건강진단 실무지침을 참조하

여 생물학적 노출지표 노출기준값의 0.5, 1, 2배 범위로 계획하여 첨가량을 결정하였다. o-크레졸 표준시약 44 mg을 취하여 탈이온수 10 mL에 첨가하여 4,400 mg/L의 수용액을 제조하였다. 4,400 mg/L 수용액 0.13 mL와 원료 소변 350 mL를 혼합하여 1.6 mg/L의 고농도 시료를 조제하였다. 고농도 시료 150 mL와 원료 소변 150 mL를 혼합하여 0.8 mg/L의 중간 농도 시료를 제조하였다. 저농도 시료는 중간 농도 시료 100 mL와 원료 소변 100 mL를 혼합하여 조제하였다(표 11).

조제한 시료는 Simport사(캐나다)의 sterile 2mL cryovial에 소분하여 보관하였다. 균질성 시험을 위해 시료를 소분할 시료용기의 부피는 이후에 실제로 표준물질로 사용하기 위한 시료용기의 부피보다 커서는 안되므로 (Lawn R et al, 2001), 국내 특수건강진단 분석정도관리에 적용시 사용하는 시료용기의 부피가 5 mL임을 고려하여 균질성과 안정성 확인을 위한 시료를 2 mL의 용기에 소분하여 보관하였다.

<표 11> o-크레졸 시료 조제 계획

시료		저농도	중간 농도	고농도
목표 농도 (mg/L)		0.4	0.8	1.6
부피 (mL)	원료 소변	100	150	350
	중간농도 시료	100	-	-
	고농도 시료	-	150	-

3. 실험 방법

1) 시약 및 장비

o-크레졸 표준시약은 Sigma-Aldrich사(미국)의 특급시약을 구매하여 사용하였다. 정확도 평가를 위해 독일정도관리 시료를 활용하였다. 메탄올은 Merck사(미국)의 특급시약을 사용하였다. 탈이온수는 Millipore사(미국)의 Milli-RO와 Milli-Q water system으로 실험실에서 만들어 사용하였다.

o-크레졸 분석에는 Agilent사(미국)의 Agilent 7890을 사용하였고 컬럼은 DB-624 (30 m x 0.25 mm ID, 1.4 μ m 막 두께, 미국)를 사용하였다.

2) 시약 조제

(1) 표준용액

가) 10 mL 용량플라스크에 o-크레졸을 10 mg 취하고 탈이온수로 표선을 맞추어 o-크레졸 1,000 mg/L 용액을 조제하였다.

나) o-크레졸 1,000 mg/L 용액을 1 mL 취하여 10 mL 용량플라스크 넣고 탈이온수로 표선을 맞추어 100 mg/L 용액을 조제하고, 다시 100 mg/L 용액을 1 mL 취하여 10 mL 용량플라스크 넣고 탈이온수로 표선을 맞추어 10 mg/L 용액을 조제하였다. 10 mg/L 용액을 탈이온수로 희석하여 0.2, 0.8, 1.4, 2.0 mg/L의 용액을 만들어 검량선용 표준용액을 조제하였다. 탈이온수를 공시료(blank)로 사용하였다.

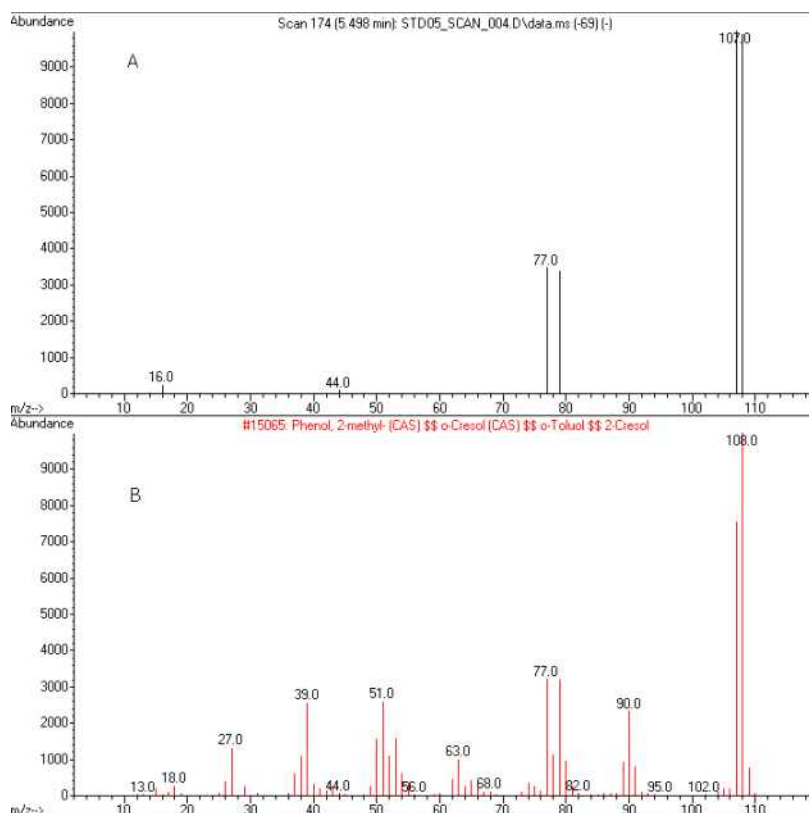
3) 시료 및 표준용액 전처리

(1) 가스크로마토그래피/질량분석 검출법

가) 시료는 거품이 발생하지 않도록 3 분간 롤러 믹서에서 혼합하였다.

- 나) GC 바이알에 메탄올 0.5 mL와 표준용액 및 시료 0.5 mL를 넣고 혼합한 후 바이알채로 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 분석하였다.
- 다) o-크레졸의 질량분석 스펙트럼으로부터 o-크레졸 검출에 선택적인 이온피크가 분자량 피크인 m/e 108임을 확인하여 이 피크를 o-크레졸 검출 감도를 높이기 위한 선택적 이온모니터링에 사용하였다(그림 1, 표 12)

**[그림 1] o-크레졸의 질량스펙트럼
(A:시료피크, B:검색결과)**



<표 12> 가스크로마토그래프-질량분석기 분석 조건

가스크로마토그래프 조건	
온도	
주입부	250 ℃
컬럼	150 ℃(7 분)
유량(헬륨)	1.2 mL/분
분할비	10:1
주입량	1 µL
질량분석기 조건	
온도	
이온발생부	150 ℃
연결관	250 ℃
검출방식	
선택적이온모니터링(SIM)	m/e 108
용매대기시간	5 분

4) 농도 계산

검량선용 표준용액의 농도를 가로(x)축으로 하고, o-크레졸 피크 면적을 세로(y)축으로 하여 검량선을 작성하고, $y = ax + b$ 의 회귀방정식을 통해 o-크레졸의 농도(mg/L)를 구하였다. 검량선에 시료의 피크 면적을 대입하여 시료 중 포함된 o-크레졸의 농도를 계산하였다.

5) 분석 방법 신뢰도 확인

(1) 직선성

o-크레졸 0.2 - 2.0 mg/L 범위에서 검량선을 작성하고 o-크레졸의 농도와 피크면적의 상관계수로부터 검량선의 직선성을 확인하였다.

(2) 검출한계

AIHA(1988)에서 제시한 바에 근거하여 검량선 작성 자료를 이용한 통계적 방법으로 o-크레졸의 농도와 이온검출값의 상관계수로부터 분석방법의 검출한계를 산출하였다.

(3) 정밀도

검량선 범위 안에서 3 개 농도의 시료를 3 회 반복 분석하여 당일 정밀도를 산출하고, 다른 날 구한 당일 정밀도를 이용하여 일간 정밀도를 산출하였다.

(4) 정확도

소변 시료 조제 방법과 동일한 방법으로 소변 원료시료에 o-크레졸을 첨가한 시료를 3회 분석하여 구한 회수율로부터 정확도를 산출하였다.

4. 표준 시료 신뢰도

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). 본 연구에서는 10개 바이알을 취하여 2회씩 반복 분석하고 95% 신뢰수준에서 균질성을 평가하였다(부록 2).

2) 안정성 평가

보관 온도와 기간에 따른 안정성을 평가하기 위하여 조제한 표준시료를 25℃, 4℃, -20℃, -80℃에서 각각 총 30일간 보관하면서 조제 직후의 시료의 분석값과 7일, 30일 경과 후 시료의 분석값을 비교하였다. 본 연구에서는 조건당 3개 시료를 취하여 분석하고 95% 신뢰수준에서 안정성을 평가하였다(부록 3).

3) 외부 실험실 분석결과 비교

조제한 표준시료 중 o-크레졸의 외부 실험실 분석값 비교를 위해 o-크레졸 미량 분석이 가능한 가스크로마토그래프-질량분석기를 보유한 대학기관 1개소에 3농도의 표준시료 분석을 의뢰하였다. 비교용 시료는 특수건강진단기관 분석정도 관리에 사용하는 스티로폼 박스와 냉동팩을 사용하여 포장하여 배송하였다.

Ⅲ. 연구 결과

1. 통계 자료 현황

2015년부터 3년간 한국산업안전보건공단에 등록된 특수건강진단 통계 자료 중 톨루엔의 노출지표인 소변 중 마노산 자료는 총 563,369건으로, 특수건강진단 생물학적 노출평가 보고 사례 중 가장 보고 사례가 많은 항목이다. 2013년부터 2년간 집계한 31항목의 생물학적 노출평가 항목별 통계자료 중 소변 중 마노산은 전체 보고 자료의 20%를 차지하였다(이미영, 2016). 생물학적 노출평가 통계 자료에서 국내 노출 기준인 2.5 g/g 크레아티닌을 초과하는 자료는 연간 0.2%, 국내 톨루엔 작업환경 노출기준인 50 ppm 노출에 해당하는 생물학적 노출기준인 1.6 g/g 크레아티닌을 초과하는 자료는 연간 1% 정도였다.

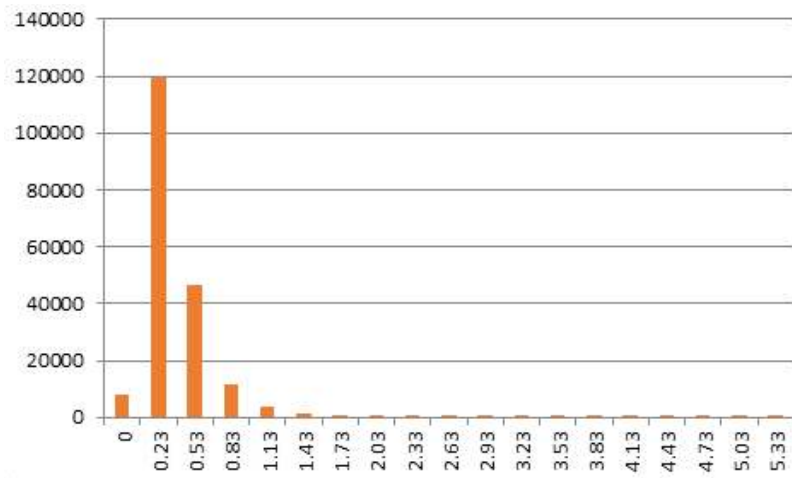
<표 13> 톨루엔의 생물학적 노출 평가 실적

(단위: 건수)

연도	소변 중 마노산	2.5 g/g 크레아티닌 초과 ¹⁾	1.6 g/g 크레아티닌 초과 ²⁾
2015	179,390	434	1,810
2016	189,477	417	1,745
2017	194,502	383	1,717

1) 톨루엔 작업환경 노출기준 100 ppm에 해당하는 생물학적 노출기준

2) 국내 톨루엔 작업환경 노출기준인 50 ppm에 해당하는 생물학적 노출기준(2007년 개정)

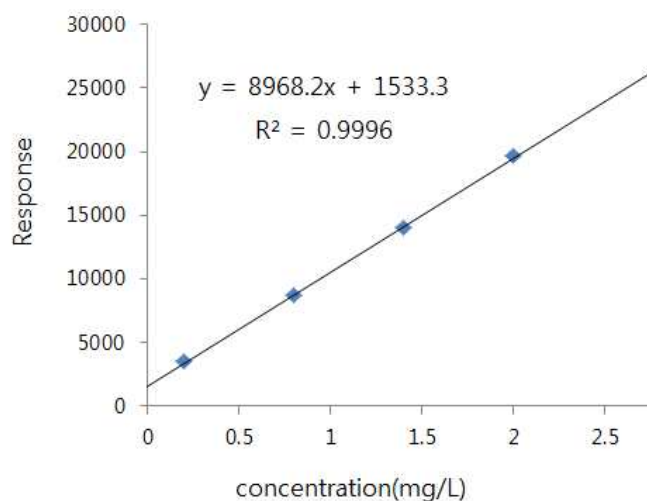


[그림 2] 소변 중 마뇨산 농도별 자료 분포(2017)

2. 분석방법 신뢰도

1) 직선성

o-크레졸 0.2-2.0 mg/L 농도 범위에 대해 작성한 검량선은 상관계수 0.999 이상의 양호한 직선성을 나타내어, 이 농도 범위 안에서 o-크레졸 정량분석을 실시하였다.



[그림 3] o-크레졸의 검량선 예시

2) 검출한계

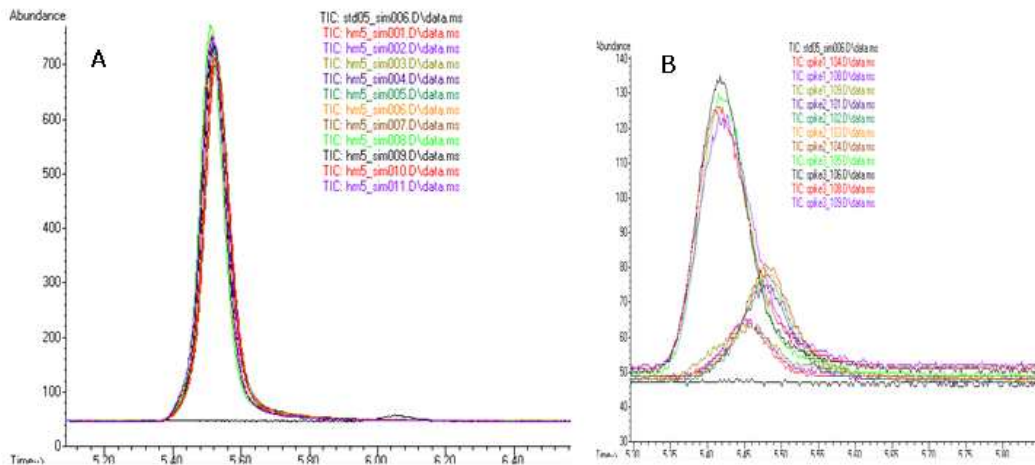
검량선 작성 자료를 이용한 통계적 방법으로 산출한 분석방법의 검출한계는 0.05 mg/L(S/N비 3)였으며, 정량한계는 0.16 mg/L로, 검출한계 이상에서 o-크레졸 표준시료 저농도 시료 정량분석이 가능함을 확인하였다.

3) 정밀도

소변 중 o-크레졸 3개 농도 시료를 각각 3 회 분석하여 구한 정밀도는 평균 2.5%였으며, 일간 정밀도는 평균 2.1%였다.

4) 정확도

소변 중 o-크레졸 3개 농도 시료를 각각 3 회 분석하여 구한 회수율은 평균 104%였다.



[그림 4] o-크레졸 분석 크로마토그램 예시
(A:표준용액 중 o-크레졸, B:소변 중 o-크레졸)

3. 표준시료 신뢰도

1) 균질성 평가

각 항목에 대해 농도별로 10 개의 시료에 대한 2 회 반복 분석 결과를 이로부터 구한 F값을 기준 F값과 비교하여 균질성을 평가하였다. 시료의 분석값으로부터 산출한 F값이 기준 F값인 3.020보다 작으면 균질하다고 말할 수 있는데, <표 15>의 결과로부터, 제조한 3종의 시료는 모두 균질함을 알 수 있었다.

<표 14> o-크레졸 첨가 표준 시료의 균질성 검토결과

Sample	Average($\mu\text{g/L}$)	F value
Level 1	0.37	1.915
Level 2	0.71	0.975
Level 3	1.51	1.755

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 CT_m 이 C_{refm} 과 유의하게 다르지 않으며, 따라서 주어진 조건 아래 유의한 변화가 없이 안정하다고 볼 수 있다. <표 16>에서 제시한 안정성 검토 결과로부터 이번 연구에서 제조한 3 종의 시료는 모두 30 일 보관 시점까지 안정하다고 평가하였다.

<표 15> o-크레졸 첨가 표준 시료의 안정성 검토 결과

보관조건	농도 1 RT±U _{RT}		농도 2 RT±U _{RT}		농도 3 RT±U _{RT}	
-80℃, 조제당일	0.972	1.053	0.930	1.032	0.999	1.011
-80℃, 7일경과	0.940	1.058	0.988	1.046	0.976	1.043
-80℃, 30일경과	0.933	1.007	0.975	1.008	0.972	1.012
-20℃, 조제당일	0.994	1.038	0.944	1.033	0.979	1.018
-20℃, 7일경과	0.935	1.064	0.967	1.014	0.979	1.023
-20℃, 30일경과	0.977	1.027	0.985	1.055	0.975	1.036
4℃, 조제당일	0.978	1.030	0.985	1.053	0.975	1.011
4℃, 7일경과	0.979	1.024	0.977	1.012	0.935	1.045
4℃, 30일경과	0.971	1.027	0.969	1.045	0.980	1.019
RT, 조제당일	0.978	1.038	0.981	1.010	0.937	1.006
RT, 7일경과	0.939	1.004	0.944	1.035	0.980	1.010
RT, 30일경과	0.966	1.016	0.930	1.008	0.922	1.063

3) 외부실험실 분석 결과 비교

<표 16> o-크레졸 표준 시료의 실험실간 분석결과 비교

(단위 : mg/L)

실험실	농도 1	농도 2	농도 3
연구원	0.37	0.71	1.51
대학기관	0.32	0.66	1.36

IV. 고찰 및 결론

톨루엔의 노출 평가를 위해 국내에서 적용하고 있는 생물학적 노출지표는 소변 중 마뇨산이며, 이 항목은 국내 특수건강진단기관의 생물학적 노출평가 실적 중 가장 큰 비중을 차지하는 항목이다. 그러나 톨루엔의 중간 대사산물이며 식품 방부제로 사용하는 벤조산이 체내에서 계속 대사과정을 거쳐 마뇨산으로 변화하므로 소변중 마뇨산은 톨루엔에 특이적인 노출지표가 아니라는 제한점이 있다.

미국 ACGIH 권장 생물학적 노출기준의 변천 과정에서, 톨루엔 노출기준이 100 ppm이었을 때 소변 중 마뇨산 노출기준을 2.5 g/g 크레아티닌으로 설정하였고, 1993년 톨루엔 노출기준을 50 ppm으로 낮춘 후 1998년에 마뇨산 노출기준을 1.6 g/g 크레아티닌으로 낮추었는데, 계속 마뇨산의 생물학적 노출지표로서의 효용성에 대한 의문이 강하게 제기됨에 따라 2009년에는 소변 중 마뇨산을 노출지표에서 제외시켰다.

2007년에 국내 톨루엔 노출기준을 50 ppm으로 낮추어 톨루엔 노출에 대한 관리를 강화하였으나 생물학적 노출지표인 소변 중 마뇨산 노출기준 변경이 지연되어 2018년 현재까지 소변 중 마뇨산 노출 지표는 톨루엔의 작업환경 노출기준 100 ppm에 대응하는 노출기준인 2.5 g/g크레아티닌으로 유지되고 있다. 톨루엔 노출기준이 50 ppm으로 변경되었으므로 이 노출기준에 대해 미국 ACGIH에서 1998년 권장한 소변 중 마뇨산 노출기준인 1.6 g/g 크레아티닌으로 변경하는 것이 타당하지만, 이후 미국에서 마뇨산이 톨루엔의 특수건강진단 생물학적 노출지표로서의 효용성이 낮기 때문에 인정하여 2007년에 소변 중 마뇨산을 생물학적 노출지표에서 삭제하였음을 고려할 때 톨루엔의 노출지표로 소변 중 마뇨산보다 더 효율적인 생물학적 노출지표에 대한 요구가 있었다.

국내에서는 톨루엔의 생물학적 노출지표 1차 항목으로 소변 중 마뇨산을 지정하여 톨루엔 노출 근로자에 대해서 반드시 소변 중 마뇨산을 평가하고 있으나, 연간 총 20만건에 가까운 노출 평가 결과에서 국내 노출기준을 초과하는 경우는 0.2%에 불과하며, 노출기준을 현재 톨루엔 노출 기준에 해당하는 1.6 g/g크레아티닌으로 강화해도 1% 미만이 기준치를 초과하고 있어, 소변 중 마뇨산을 톨루엔의 생물학적 노출지표로 유지하는 것에 대한 비용 효과가 크지 않은 상황이다.

Inoue 등(2008)은 기하평균 1.9 ppm의 저농도 톨루엔 노출 평가 지표로 소변과 혈액 중 톨루엔이 유용함을 제시한 바 있으며, 현재 미국 ACGIH에서도 이 두 지표와 소변 중 o-크레졸을 톨루엔의 노출지표로 권장하고 있다. 독일은 MAK 50 ppm에 해당하는 톨루엔 노출지표로 혈액 중 톨루엔과 o-크레졸을 지정하였으며, 일본 산업위생학회에서도 OEL 50 ppm의 톨루엔에 대한 생물학적 노출 지표로 혈액과 소변 중 톨루엔을 사용하고 있다.

연구원에서 과거에 수행한 연구에서 o-크레졸이 공기 중 톨루엔 10 ppm까지, 소변 중 마뇨산은 공기 중 톨루엔 5 ppm까지 상관성을 보인 바 있으므로(이미영 등, 2012) o-크레졸을 마뇨산 대체 항목으로 검토하고 향후 o-크레졸 분석의 신뢰도 확인에 사용할 수 있는 분석정도관리 시료를 개발하였다. o-크레졸은 소변과 혈액 중 톨루엔에 비해 추가 분석 설비가 필요하지 않으며 현재 국내 특수건강진단기관의 필수장비인 가스크로마토그래프를 이용하여 분석이 가능한 항목이다. 본 연구에서는 o-크레졸의 분석 선택성이 우수한 가스크로마토그래프-질량분석기를 사용하여 분석을 수행하였으며, 질량분석기를 보유하지 않은 기관은 안전보건공단 안전보건기술지침에서 제시한 분석방법을 사용하여 분석이 가능하다(부록 3).

소변 중 o-크레졸이 생물학적 노출평가 항목으로 반영되면 본 연구 결과를 근거로 하여 조제한 소변 중 o-크레졸 표준시료를 특수건강진단기관에 제공하여 o-크레졸의 분석 능력 확인을 지원하고, 새로운 정도관리 항목을 운영하여

특수건강진단기관 정도관리 시료로 활용할 예정이다.

장기적인 표준시료 개발을 위해 2016년에 조사한 특수건강진단 생물학적 노출 평가 통계자료를 근거로(이미영, 2016) 표준시료 개발 목록을 제시하고 전문가회의를 통해 개발 계획이 타당함을 확인하였다(<표17>). 선정 기준은 근로자 생물학적 노출평가 항목에 반영되어 있으며 분석 결과 보고 사례가 있는 항목을 우선 순위로 반영하고, 분석 수탁기관을 중심으로 고성능 분석 설비 확충에 따라 향후 분석이 가능할 것으로 예상되는 노출 지표의 의미가 큰 항목을 추가로 고려하였다.

<표 17> 표준시료 개발 장기 계획

연도	항목	제안사유
2019	소변 중 크롬	2013-2014 특검통계 실적 145건
2020	소변 중 1-하이드록시파이렌	“ 34건
2021	혈액 중 수은	“ 8건
2022	소변 중 TTCA	이황화탄소 생물학적 노출지표
2023	소변 중 바나듐	생물학적 노출검사 2차 항목
2024	소변 중 S-페닐머캅토산	벤젠 선택적 노출지표
2025	소변 중 유기용제	유기용제 선택적 노출지표
2026	혈액 중 유기용제	“

참 고 문 헌

- 1) 양정선. 복합유기용제 및 중금속 폭로 근로자의 생물학적 모니터링에 관한 연구: 생물학적 모니터링에 관한 분석의 정도관리 프로그램. 산업보건연구원 연구자료 센터 95-4-21, 한국산업안전공단; 1995.
- 2) 이미영, 원용림, 류향우. 현행 특수건강진단제도상 생물학적 노출지표 선정의 유효성 평가(I) - 톨루엔 -:산업안전보건연구원 연구보고서 2016-연구원-1211, 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원;2012.
- 3) 이미영. 특수건강진단 생물학적 노출평가 분석 현황 연구:산업안전보건연구원 연구보고서 2016-연구원-1211, 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원;2016.
- 4) 톨루엔의 생물학적 노출지표물질 분석에 관한 지침. 한국산업안전보건공단 안전보건기술지침 H-8-2017;2017.
- 5) 근로자건강진단실무지침. 한국산업안전보건공단;2017.
- 6) 한국표준과학연구원;2004. <http://crm.kriss.re.kr/>
- 7) 백남원. 산업위생학개론. 신광출판사;1995.(61-90쪽.)
- 8) BAM;2004. <http://www.comar.bam.de/>
- 9) Brookman B, Walker R. Guidelines for the in-house production of reference materials, ver. 2: LGC/VAM/1998/040: LGC;1998.
- 10) Hasegawa K, Shiojima S, Koizumi A et al. Hippuric acid and o-cresol in the urine of workers exposed to Toluene, International Arch. Occup. Environ. Health, 1983;52(3):197-208
- 11) Inoue O, Kanno E, Kasai K et al. Benzylmercapturic acid is superior to hippuric acid and o-cresol as a urinary marker of occupational exposure to toluene, Toxicology Letters, 2004;147(2):177-86

- 12) Inoue O, Kawai T, Ukai H, et al. Limited Validity of o-cresol and Benzylmercapturic Acid in Urine as Biomarkers of Occupational Exposure to Toluene at Low Levels, *Industrial Health*, 2008;46(4):318-25
- 13) EA. The selection and use of reference materials: EA-4/14 (rev.00): European co-operation for Accreditation;2003.
- 14) EC. Guidelines for the production and certification of BCR reference materials : document BCR/01/97: European Commission; 1997.
- 15) G-EQUAS;2018. <http://www.g-equas.de/>
- 16) IAEA;2004. <http://www-naweb.iaea.org/nahu/nmrm/default.shtm>
- 17) ILAC. Guidelines for the requirements for the competence of reference materials producers: ILAC - G12:2000: ILAC; 2000.
- 18) ISO. Certification of Reference Materials -- General and Statistical Principles: ISO Guide 35: ISO; 1989
- 19) ISO. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.: ISO/IEC 17025: ISO; 1999
- 20) ISO. The role of reference materials achieving quality in analytical chemistry: ISO 2000-01/1000: ISO; 2000.
- 21) 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.
- 22) 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.
- 23) Linsinger TPJ, Pauwels J, van der Veen AMH, Schimmel H, Lamberty A. Homogeneity and stability of reference materials. *Accred Qual Assur.* 2001;6:20-25.

- 24) Love J. Reference materials – a view from a small country. Fresenius J Anal Chem. 2001;370:160–63.
- 25) Pauwels J, Lambert A. CRMs for the 21st century: new demands and challenges. Fresenius J Anal Chem. 2001;370:111–14.
- 26) PCI:Interlaboratory comparison program for metals in biological matrices;2018. <https://www.inspq.qc.ca/en/ctq/eqas/pci/description>
- 27) Lehtinen S. Biological monitoring of chemical exposure in the workplace.WHO; 1996.p.205–217.

ABSTRACT

Title: Development of biological reference material for proficiency test program – Urinary o-cresol as bio-marker of toluene exposure

Objectives: This study is to develop reference material of urinary o-cresol to enhance analytical ability of laboratories in industrial health by applying this material for proficiency test on analysis of markers of exposure to toluene.

Methods: Urine samples of 3 concentration levels of o-cresol were prepared. Stability test for 30 days at 4 different temperatures and homogeneity test were performed for these samples. Analytical method was gas chromatograph-mass selective detector at SIM(selective ion monitoring) mode.

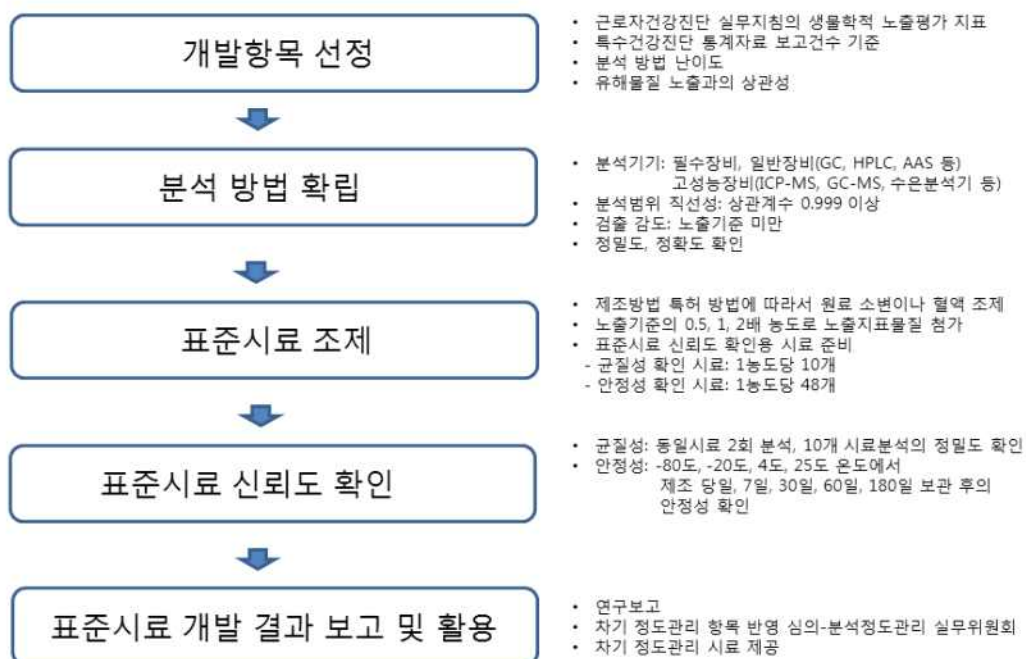
Results: Prepared samples showed homogeneity at confidence level of 95%, and they showed good recovery of nickel after 30 days at room temperature.

Conclusion: The homogeneity of reference material of urinary o-cresol were confirmed. These samples will be utilized as reference samples for Korean quality assurance program for proficiency test of analytical ability of labs working in industrial health.

Key word : o-cresol, toluene exposure, stability, homogeneity, proficiency test, reference material

부 록

1. 정도관리 표준시료 개발 과정



[그림 5] 정도관리 표준시료 개발 단계 및 세부 수행 사항

2. 균질성 평가(BAM,2004)

분석법의 반복성 표준편차를 S_b , 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 표준불확도 u_{hom} 로 채택한다.

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

확장불확도 U_{hom} 는

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

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

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

$$U_{R_T} = t \times S_{R_T} \quad \text{로 계산되며,}$$

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.

4. 소변 중 o-크레졸 가스크로마토그래프-불꽃이온화검출기 분석법

(톨루엔의 생물학적 노출지표물질 분석에 관한 지침, 2017)

(1) 표준용액 조제

(가) o-크레졸 10 mg (12 μ L)을 10 mL 용량플라스크에 옮기고 증류수로 표선을 채워 1,000 mg/L의 표준용액 원액을 조제한다. 이를 표준용액 원액으로 한다.

(나) 표준용액 원액을 500 μ L 취하여 10 mL 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 50 mg/L 용액을 만든다. 이 용액을 0.02, 0.06, 0.1, 0.2, 0.3 mL씩 취하여 10 mL 용량플라스크에서 탈이온수로 희석하여 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 1.5 mg/L의 용액을 만들어 검량선용 표준용액으로 한다. 탈이온수를 공시료로 한다.

(2) 시료 및 표준용액 전처리

(가) 소변 또는 표준용액을 3분간 잘 섞어준 후 4 mL를 취하여 마개달린 시험관에 옮긴다.

(나) 진한 염산 1 mL를 가하고 100 $^{\circ}$ C에서 30분간 가수분해시킨다.

(다) 시험관을 식히고 이소프로필에테르 1 mL를 가한 후, 손으로 잘 흔들고 3000 rpm에서 8분간 원심분리시킨다.

(라) 위층의 이소프로필에테르 층을 취하여 가스크로마토그래프용 검액으로 한다.

(3) 검출한계

0.1 mg/L(S/N비 3)

<표 18> o-크레졸의 가스크로마토그래프-불꽃이온화검출기 분석 조건

구분		분석조건
Detector		FID
Column		DB-1 (30 m×0.25 mm×0.25 mm ID)
Temperature	Injector	230℃
	Detector	250℃
	Column	100℃(30℃/min, 5min) - 160℃(1min) - 250℃
Flow rate		1.5 mL/min, 이동상 N ₂
Split ratio		5 : 1

〈〈연 구 진〉〉

연구기관 : 산업안전보건연구원

연구책임자 : 이 미 영 (연구위원, 약학박사, 직업건강연구실)

공동연구자 : 김 은 아 (연구위원, 의학박사, 직업건강연구실)

연 구 원 : 이 혜 지 (연구원, 직업건강연구실)

〈〈연 구 기 간〉〉

2018. 01. 01 ~ 2018. 11. 30

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

산업안전보건연구원장

**생물학적 노출평가 표준시료 개발(3) - 톨루엔의
생물학적 노출평가를 위한 소변 중 o-크레졸
(2018-연구원-832)**

발 행 일 : 2018년 11월 30일
발 행 인 : 산업안전보건연구원 원장 직무대리 이관형
연구책임자 : 산업안전보건연구원 이미영
발 행 처 : 안전보건공단 산업안전보건연구원
주 소 : (44429) 울산광역시 중구 종가로 400
전 화 : (052) 703 - 0873
F A X : (052) 703 - 0335
Homepage : <http://oshri.kosha.or.kr>

[비매품]

