

KOSHA GUIDE

H - 153 - 2021

이황화탄소의 생물학적 노출지표 물질 분석에
관한 기술지침

2021. 10.

한 국 산 업 안 전 보 건 공 단

안전보건기술지침의 개요

○ 제정자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 강영중

○ 제정 경과

- 2014년 11월 산업의학분야 제정위원회 심의
- 2021년 8월 산업의학분야 표준제정위원회 심의(법령 및 규격 최신화)

○ 관련규격 및 자료

- 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원. 근로자 건강진단 실무지침: 제1권 특수건강진단 개요. 2020-산업안전보건연구원-349
- 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원. 생물학적 노출평가 기준 및 분석방법 연구 I : 크실렌 등 유기용제 16종. 보건분야-연구자료 연구원 2010-64-880. 2010

○ 관련법규·규칙·고시 등

- 산업안전보건법 시행규칙 [별표 24] 특수건강진단·배치전건강진단·수시건강진단의 검사항목(제206조 관련)
- 고용노동부고시 제2020-61호(특수건강진단기관의 정도관리에 관한 고시)
- 고용노동부고시 제2020-60호(근로자 건강진단 실시기준)
- 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원. 「근로자건강진단 실무지침」 제1권 특수건강진단 개요. 2020-산업안전보건연구원-349

○ 기술지침의 적용 및 문의

이 기술지침에 대한 의견 또는 문의는 한국산업안전보건공단 홈페이지(<http://kosha.or.kr>) 안전보건기술지침 소관 분야별 문의처 안내를 참고하시기 바랍니다.

공표일자 : 2021년 10월

제정자 : 한국산업안전보건공단 이사장

이황화탄소의 생물학적 노출지표 물질 분석에 관한 기술지침 제안 개요

I. 개정 이유

이 지침은 산업안전보건법(이하 “법”이라고 한다) 제130조 및 같은 법 시행규칙(이하 “시행규칙”이라고 한다) 제206조(특수건강진단 등의 검사항목 및 실시방법 등) 별표 24, 고용노동부고시 제2020-61호(특수건강진단기관의 정도관리에 관한 고시) 및 고용노동부고시 제2020-60호(근로자 건강진단 실시기준)에 따라 이황화탄소에 노출된 근로자의 생물학적 노출평가와 관련된 노출지표 물질의 분석 방법을 제시함을 목적으로 함

II. 개정(안)의 주요내용

- 이황화탄소의 생물학적 노출 지표인 소변 중 TTCA(2-thiothiazolidine-4-carboxylic acid)의 분석을 위해 시료 및 표준용액 전처리 및 분석 방법 등에 대해 기술함
- 산업안전보건법 시행규칙 제206조 관련 별표 24에서 이황화탄소의 생물학적 노출지표검사에 대한 분석지침 반영

III. 관련 법규정 및 규격

- 산업안전보건법 시행규칙 제206조 별표 24(특수건강진단·배치전건강진단·수시건강진단의 검사항목)
- 고용노동부고시 제2020-61호(특수건강진단기관의 정도관리에 관한 고시)
- 고용노동부고시 제2020-60호(근로자 건강진단 실시기준)
- 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원, 「근로자건강진단 실무지침」 제1권 특수건강진단 개요, 2020-산업안전보건연구원-349

IV. 제정위원회 심의개요

- 제 안 자 : 산업안전보건연구원 강영중
- 심 의 일 : 2014년 11월 18일
- 참석인원 : 재적위원 14명 중 8명 참석

○ 심의결과 : 제출안에 동의함

이황화탄소의 생물학적 노출지표 물질 분석에 관한 기술지침

1. 목 적

이 지침은 산업안전보건법(이하 “법”이라고 한다) 제130조 및 같은 법 시행규칙(이하 “시행규칙”이라고 한다) 제206조(특수건강진단 등의 검사항목 및 실시방법 등) 별표 24, 고용노동부고시 제2020-61호(특수건강진단기관의 정도관리에 관한 고시) 및 고용노동부고시 제2020-60호(근로자 건강진단 실시기준)에 따라 이황화탄소에 노출된 근로자의 생물학적 노출평가와 관련된 생물학적 노출지표 물질의 분석 방법을 제시함을 목적으로 한다.

2. 적용범위

이 지침은 법, 시행규칙 및 고용노동부고시에 따라 실시하는 근로자 건강진단 중 이황화탄소에 노출되는 근로자의 생물학적 노출평가에 적용한다.

3. 정 의

(1) 이 지침에서 사용하는 용어의 뜻은 다음과 같다.

- (가) “생물학적 노출평가”란 혈액, 소변 등 생체시료로부터 유해물질 자체 또는 유해물질의 대사산물이나 생화학적 변화산물 등을 분석하여 유해물질 노출에 의한 체내 흡수정도나 건강영향 가능성 등을 평가하는 것을 말한다.
- (나) “생물학적 노출지표 물질”이란 생물학적 노출평가를 실시함에 있어 체내 흡수정도를 반영하는 물질로서 유해물질 자체나 그 대사산물, 생화학적 변화물 등을 말한다.
- (다) “정밀도(Precision)”란 일정한 물질에 대하여 반복측정·분석을 했을 때 나타나는 자료분석치의 변동크기가 얼마나 되는가를 나타낸다. 이 경우 같은 조건에서 측정했을 때 일어나는 우연오차(Random error)에 의한 분산

(Dispersion)의 정도를 측정값의 변이계수(Coefficient of variation)로 표시한다.

(라) “정확도(Accuracy)”란 분석치가 참값에 얼마나 접근하였는지를 수치로 표현한 것이다. 다만, 인증표준물질이 있는 경우는 상대오차로 표시하고, 인증표준물질이 없는 경우는 시료에 첨가한 값으로부터 구한 평균회수율로 표시한다.

(마) “검출한계(Limit of detection: LOD)”란 공시료 신호값(Blank signal, background signal)과 통계적으로 유의하게 다른 신호값(Signal)을 나타낼 수 있는 최소의 농도를 말한다. 이 경우 가장 널리 사용하는 공시료 신호값과의 차이가 공시료 신호값 표준편차의 3배인 경우로 한다.

(2) 그밖에 용어의 뜻은 이 지침에서 특별히 규정하는 경우를 제외하고는 법, 같은 법 시행령, 같은 법 시행규칙 및 「산업안전보건기준에 관한 규칙」에서 정하는 바에 따른다.

4. 분석장비

분석장비는 고성능 액체크로마토그래프-자외선검출기(High performance liquid chromatograph-ultraviolet detector, HPLC-UVD)를 사용한다.

5. 분석방법

(1) 분석 원리

이황화탄소는 흡입, 피부, 그리고 경구로서 광범위하게 흡수되며, 흡수된 이황화탄소 중 약 6%가 TTCA(2-thiothiazolidine-4-carboxylic acid로 배설되므로 이를 고성능 액체크로마토그래프와 자외선검출기로 분석한다.

(2) 시료의 채취

(가) 시료 채취 시기

소변 시료는 당일 작업종료 2 시간 전부터 작업종료 사이에 채취한다.

(나) 시료 채취 요령

- ① 채취 용기는 밀봉이 가능한 용기를 사용하고, 시료는 10 mL 이상 채취한다.
- ② 채취한 시료는 시료 채취 용기에 밀봉하여 채취 후 5일 이전에 분석하면 4 ℃(2~8 ℃)에서 냉장 보관한다. 단, 분석까지 보관 기간이 5일 이상 걸리는 경우에는 시료를 냉동보관용 저온바이알에 옮겨 -20 ℃이하에서 냉동 보관한다.

(3) 기구 및 시약

(가) 기구

- ① 용량플라스크 1,000 mL
- ② 용량플라스크 100 mL
- ③ 용량플라스크 20 mL
- ④ 용량플라스크 10 mL
- ⑤ 테플론막 마개 유리시험관 15 mL
- ⑥ 테플론막 마개 유리시험관 10 mL
- ⑦ 마이크로피펫 100-1,000 μ L
- ⑧ 질소 농축기
- ⑨ 볼텍스 믹서
- ⑩ 원심분리기

(나) 시약

- ① TTCA(2-thiothiazolidine-4-carboxylic acid)
- ② 염화나트륨
- ③ 5 N 염산
- ④ 초산
- ⑤ 디에틸에테르
- ⑥ 메탄올
- ⑦ 아세토니트릴
- ⑧ 탈이온수(18 M Ω /cm 이상)

(4) 시약 조제

(가) 표준용액

- ① TTCA 약 20 mg을 100 mL 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채운 후 잘 섞어주어 200 mg/L의 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다.
- ② 표준용액 원액을 0.1 mL 취하여 20 mL 용량플라스크에 넣고 탈이온수로 표선까지 채운다. 같은 방법으로 표준용액 원액을 0.1, 0.2, 0.3, 0.5, 0.8, 1.0 mL를 취하여 10 mL 용량플라스크에 넣어 각각 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 10.0, 16.0, 20.0 mg/L가 되도록 제조한 것을 검량선용 표준용액으로 한다. 증류수를 공시료로 한다.

(나) 이동상

- ① 아세트니트릴을 이동상 A로 사용한다.
- ② 약 500 mL의 탈이온수를 1,000 mL 용량플라스크에 넣고 6.0 mL의 빙초산(glacial acetic acid)을 가해 표선을 맞춰 제조한 0.1 M 초산(pH 3.0)을 이동상 B로 사용한다.

(5) 시료 전처리

(가) 1 mL의 소변을 15 mL 유리마개 딸린 시험관에 취한다.

(나) 포화 염화나트륨 용액 250 μ L를 첨가한 후 5 N 염산 50 μ L를 가한다.

(다) 교반기에서 약 1분간 섞은 후 4 mL의 디에틸에테르를 가하고 다시 1분간 잘 섞는다.

(라) 혼합액은 3,000 x g 에서 10분간 원심분리 한다.

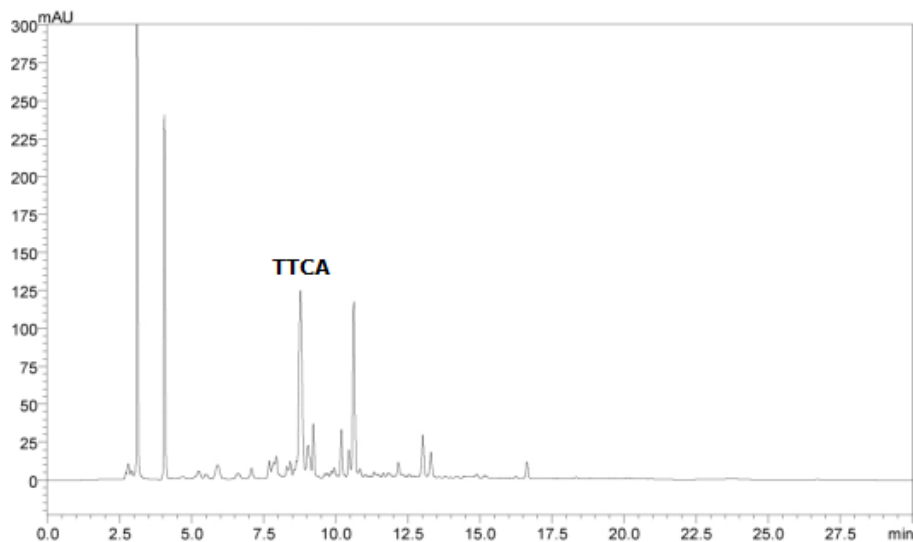
(마) 피펫을 사용하여 분리된 에테르 층 2 mL을 취하여 뚜껑 있는 바이알에 옮긴다.

(바) 질소농축기에서 30℃ 로 증발 건조시킨 후, 잔사를 1 mL 메탄올/물(50 : 50)에 녹여 HPLC용 검액으로 한다.

(6) 액체크로마토그래프 분석 조건

- (가) 컬럼 : C18, 150 mm × 4.6 mm, 5 μm 입경의 컬럼,
또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼.
- (나) 이동상 : A 아세토니트릴 / B 0.1 M 초산(pH 3.0)
- (다) 유속 : 1.0 mL/분
- (라) 시료 주입량 : 20 μL
- (마) 검출기 : 자외선검출기(275nm)

(7) 분석 결과 크로마토그램



[그림 I] 소변 중 TTCA의 HPLC 크로마토그램

(8) 농도 계산

검량선용 표준용액의 농도를 가로(x)축으로 하고, 최대피크 면적 값을 세로(y)축으로 하여 검량선을 작성하고, $y = ax + b$ 의 회귀방정식을 통해 TTCA의 농도(mg/L)를 구한 후 크레아티닌으로 보정한다. 검량선에 시료의 피크 면적을 대입하여 시료 중 포함된 TTCA의 농도를 계산한다.

(9) 생물학적 노출 평가 기준

- (가) 기준값 : 0.5 mg/g 크레아티닌

(나) 소변 중 크레아티닌 농도

소변 중 생물학적 노출평가지표물질 보정에 사용하는 크레아티닌 농도는 0.3 ~ 3.4 g/L 범위이며, 크레아티닌 농도가 이 범위를 벗어난 소변은 비정상적으로 간주하여 다시 채취한다.

(10) 정밀도(보건분야-연구자료 연구원 2010-64-880 자료 예시)

2.5, 10.0 mg/L 농도 수준에서 변이계수 4.0, 2.5%

(11) 정확도(보건분야-연구자료 연구원 2010-64-880 자료 예시)

2.5, 10.0 mg/L 농도 수준에서 평균회수율 88.4, 86.0%

(12) 검출한계(보건분야-연구자료 연구원 2010-64-880 자료 예시)

(가) 검출한계

0.08 mg/L

(나) 산출방법

검량선에 의한 표준용액의 농도와 면적간의 회귀식을 구하고 이 회귀식의 표준 오차와 기울기를 이용하여 검출한계를 산출한다.

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

Y_{ei} : 회귀식에 의해 구한 각 시료량에 대한 반응값

Y_i : 각 시료량에 대한 반응값

N : 표준용액 시료 수

b : 회귀방정식의 x계수