

보건분야 - 연구자료
연구원 2002-1-1
H-RD-I-2002-1-1

유기용제 대사산물의 규명과 분석에 관한 연구(I)

－ 염화탄화수소류 대사산물의 분석을 위한 GC(가스 크로마토그래피)와 UV(자외가시부분광광도계)법 응용 －

Analysis of metabolites of
organic solvent(I)

2001

한국산업안전공단
산업안전보건연구원

제 출 문

한국산업안전공단 이사장 귀하

본 연구를 2001년도 산업안전보건연구원의 연구사업중 “유기용제 대사산물의 규명과 분석에 관한 연구(I) - 염화탄화수소류 대사산물의 분석을 위한 GC(가스크로마토그래피)와 UV(자외가시부분광광도계)법 응용 - ”에 대한 최종 결과 보고서로 제출합니다.

2001년 12월 31일

제출자 : 산업안전보건연구원장 정 호 근
연구책임자 : 선임연구원 이 미 영
연구보조자 : 정 선 경

요 약 문

1. 과제명: 유기용제 대사산물의 규명과 분석에 관한 연구(I) - 염화탄화수소류 대사산물의 분석을 위한 GC(가스크로마토그래피)와 UV(자외가시부분광광도계)법 응용 -

2. 연구기간: 1년 (2001년 1월 - 2001년 12월)

3. 연구자: 총괄연구책임자 : 이 미 영 (선임연구원)

4. 연구목적

염화탄화수소류 화합물의 대사산물의 분석법으로 가장 널리 이용되어 온 UV법에 의한 분석결과의 오차나 영향을 명확히 제시하고 반응조건에 따른 삼염화에탄올 산화반응의 보정치를 구해주고 반응을 최적화할 수 있는 산화조건을 찾아 UV법에 의한 분석오차를 최소화하고, UV법을 총삼염화물 표준분석방법으로 권고할 수 있는지를 재검토하기 위함.

5. 연구내용

- 1) UV법에 의한 TCE 대사산물 분석
- 2) 가스크로마토그래피-ECD(전자포획검출기)법에 의한 TCE 대사산물 분석
- 3) 회수율 및 조건 비교분석
- 4) 분석방법의 선택성, 특이성, 검출 감도 등 자료분석

6. 활용계획

염화탄화수소류 대사산물의 분석의 효율적 응용방법을 제공하여 특수건강 진단을 위한 생물학적 모니터링에 활용하도록 함.

7. 연구개요

연구목적: 염화탄화수소류 화합물의 대사산물의 분석법으로 가장 널리 이용되어 온 UV법에 의한 분석결과의 오차나 영향을 명확히 제시하고 반응조건에 따른 삼염화에탄올 산화반응의 보정치를 구해주고 반응을 최적화할 수 있는 산화조건을 찾아 UV법에 의한 분석오차를 최소화하고, UV법을 총삼염화물 표준분석방법으로 권고할 수 있는지를 검토하였다.

연구방법: 산업안전보건연구원에서 역학조사를 통해 수집한 소변에 표준물질을 첨가하여 GC/ECD법과 UV법으로 분석하였다. 소변은 비중 및 크레아티닌 농도별로 4단계로 나누어 64개의 시료를 제조하여 반응 효율을 검토하였다.

연구결과: 삼염화초산의 UV법에 의한 분석 결과는 첨가값의 65 - 164%의 회수율을 나타내었고, GC-ECD법에 의한 분석 결과는 첨가한 값의 89 - 114% 범위의 회수율을 나타내어 UV법을 사용할 경우 GC-ECD법에 의한 분석 결과에 비해 저조하거나 변이가 큰 회수율을 나타내었다.

UV법의 경우, 표준 용액을 증류수로 제조한 경우 분석 결과의 정확도가 69 - 81%였고, 표준 용액에 정상인 소변 성분이 포함된 경우 93 - 96%의 정확도를 나타내었다. GC-ECD법을 이용한 분석 결과는 평균 92 - 102%의 정확도

를 나타내었다.

검출 한계는 GC-ECD법에서 삼염화초산이 0.09 mg/L, 삼염화에탄올이 0.005 mg/L로, UV법에 의해 산출된 검출한계인 1.6 mg/L보다 낮은 값을 분석할 수 있었다.

결론: 염화탄화수소류 화합물 중 퍼클로로에틸렌의 생물학적 모니터링과 같이 저농도의 시료 분석에는 보다 미량의 시료를 양호한 회수율로 분석할 수 있는 GC-ECD법이 적절하다고 사료된다. 삼염화에틸렌과 같이 생물학적 모니터링의 지표물질인 삼염화초산의 노출기준이 100mg/g creatinine 수준의 시료 분석에는 UV법에 의한 분석 방법도 양호한 결과를 얻을 수 있다. 그러나 분석에 따른 변이가 예상되므로 기준 시료를 분석한 값에 근거한 결과의 확인 및 보정이 따라야 한다.

중심어: 삼염화초산, GC-ECD법, UV법, 정확도, 회수율

차 례

제 1장 서 론	1
1. 연구배경 및 목적.....	1
제 2장 연구 방법.....	4
1. 시료 및 표준용액 제조	4
2. UV법에 의한 분석.....	5
3. GC/ECD법에 의한 분석.....	6
4. 분석 조건.....	7
제 3 장 결 과	8
1. 반응 효율	8
2. 검출 한계.....	14
제 4 장 고 찰.....	17
참고문헌.....	20
부록	
전자포획검출기.....	24

제 1장 서 론

1. 연구배경 및 목적

삼염화에틸렌(TCE), 삼염화에탄(1,1,1-trichloroethane), 퍼클로로에틸렌 등은 생물학적 모니터링 지표물질로 삼염화초산을 사용하는 염화탄화수소류 화합물이다. 삼염화에틸렌은 무색의 불연성 액체로서 금속의 탈지 용제, 페인트의 신나 등 다양한 용도의 용제, 식품가공업의 추출제로 사용될 뿐 아니라 화학 생산품의 중간산물로 근로자에게 노출된다. 주요 노출 공정은 드라이클리닝, 윤활유, 금속 탈지 및 세척 작업(degreasing), 추출 공정, 살충제, 접착제, 왁스, 수지, 타르, 페인트, 고무, 니스, 클로르아세트산 제조의 화학적 중간 공정, 도장 작업, 섬유공업 등이다. 삼염화에탄은 접착제, 금속 탈지제 등의 용제로 사용되고 일부만이 vinylidene chloride 제조 화학공정의 중간물질로 사용된다. 퍼클로로에틸렌은 용제 및 세척제, 가축용 구충제, 곡물 훈증소독제, 불화탄소의 제조에 사용되며 드라이클리닝과 금속의 탈지 작업, 중간물질로 사용되는 화학공정에서 노출된다.

염화탄화수소류 화합물의 주 흡수 경로는 호흡기로, 피부 흡수는 일반적인 작업조건에서는 무시할 정도이다. 독성에 관한 연구로는 공업용 TCE가 생쥐(mouse)에서 간암을 일으킨다는 보고가 있으나 쥐(rat)에서는 확인되지 않았다. 동물실험에서는 TCE 노출이 사구체 및 세뇨관의 기능장애를 초래한다는 결과가 보고된 바 있으며, 동물실험에 의하면 심근의 감작효과는 대사산물의 효과가 아니라 TCE 자체의 영향이라고 알려져 있다. TCE의 가장 두드러진 독성은 중추신경계 억제 작용으로 중독되면 피부염, 신경계장애 등을 유발하며, 이외에도 시력장애, 정신적 혼미(mental confusion), 피로, 오심, 구토 등의 증상이 보고된 바 있다¹⁾⁻⁹⁾. 삼염화에탄은 염화탄화수소류 중에서는 가장 독성이 적은 물질에 속하지만, 휘발성이 높기 때문에 산업장에서 폐쇄된 작업공간에서의 노출이 많아 중추신경계 억제, 심혈

관계의 epinephrine에 대한 감수성 증가, 말초신경염, 신경전달속도의 감소 등 말초신경 병변을 일으킬 수 있다는 보고도 있다. 퍼클로로에틸렌은 중추신경계 억제 작용이 있고 간손상을 일으키며 만성 폭로 시에는 말초신경계의 손상을 일으킨다.

삼염화에틸렌, 삼염화에탄은 체내에 흡수된 후 삼염화초산(18%), 삼염화에탄올(33%)으로, 퍼클로로에틸렌은 삼염화초산으로 대사되므로, 염화탄화수소류 화합물의 노출 평가를 위한 생물학적 노출평가 지표로 이들 대사산물을 분석한다¹⁰⁾⁻²³⁾. 생물학적 노출 평가 방법으로 널리 이용되어 온 것이 UV법에 의한 비색법이며, 분석법의 발전 및 최신 장비의 보급에 의해 가스크로마토그래피를 이용한 분석법의 응용이 점차 증가하고 있다. 그러나 기존의 장비의 개선이 어

Table 1. Reference value, tolerance value and analytical method of organic solvents in Korea

Item	Sampling		Marker	Analytical Method*	Tolerance value	Unit*
	sample	time				
Xylene	Urine	end of shift	Methylhippuric acid	HPLC, GC	1.5	g/g crea.
Perchloroethylene	Urine	end of shift at end of workweek	Trichloroacetic acid	GC	5	mg/L
Toluene	Urine	end of shift	Hippuric acid	HPLC, GC	2.5	g/g crea.
Styrene	Urine	end of shift	Mandelic acid	HPLC, GC	800	mg/g crea.
	Urine	end of shift	Phenylglyoxylic acid	HPLC, GC	240	mg/g crea.
1,1,1-Trichloroethane	Urine	end of shift at end of workweek	Trichloroacetic acid	GC	10	mg/L
	Urine	end of shift at end of workweek	Total trichloroethanol	GC	30	mg/L
Trichloroethylene	Urine	end of shift at end of workweek	Trichloroacetic acid and trichloroethanol	GC, UV	300	mg/g crea.
	Urine	end of shift at end of workweek	Trichloroacetic acid	GC	100	mg/g crea.
Dimethylformamide	Urine	end of shift	N-methylformamide	GC	40	mg/L

려운 기관에서는 여전히 UV법에 의한 분석법이 응용되고 있으며, 현재 특수건강진단을 위한 근로자건강진단실무지침 중 생물학적노출지표검사 항목으로도 명시되어 있다(표 1). 그러나 실제로 이들 방법에 의한 분석 결과의 오차나 영향에 대해 명확히 제시한 예를 찾아보기 어렵다. 이 연구의 목적은 반응 조건에 따른 삼염화에탄올 산화반응의 보정치를 구해주고 반응 효율을 최적화할 수 있는 산화조건을 찾아 UV법에 의한 분석오차를 최소화하고, UV법을 총삼염화물 표준 분석방법으로 권고할 수 있는지를 재검토함으로써, 이들 유기용제 대사산물의 분석의 효율적 응용 방법을 제공하고자 하였다.

제 2장 연구 방법

1. 시료 및 표준용액 제조

(1) 시약

삼염화초산, 삼염화에탄올, 삼산화크롬, 수산화칼륨, 피리딘, o-dichlorobenzene, 황산은 Aldrich사(미국)의 특급 시약을, 헥산, 메탄올은 Merck사(독일)의 HPLC급 시약을 사용하였다.

(2) 표준용액 제조

삼염화초산과 삼염화에탄올 약 50 mg을 정밀하게 달아 100 mL 용량 플라스크에 넣고 증류수로 표선을 채워 500 mg/L용액을 만들었다. 이를 탈이온수로 희석하여 삼염화초산 5, 25, 50, 75, 100 mg/L, 및 삼염화에탄올 10, 50, 100, 150, 200 mg/L의 검량선 작성용 표준용액을 제조하였다.

(3) 소변 시료 제조

1) 반응 효율

사업장에서 채취한 소변 시료 중 1.01, 1.015, 1.02, 1.025의 비중별로 4개씩 16개의 시료를 선택하여 삼염화초산은 5, 10, 100 mg/L, 삼염화에탄올은 10, 20, 200 mg/L의 농도가 되도록 첨가하였다. 삼염화초산과 삼염화에탄올을 첨가하지 않은 시료를 포함하여 64개의 소변 시료를 분석 대상으로 하였다.

2) 검출 한계

검출한계는 공시료 신호값(blank signal, background signal)과 통계적으로 유의하게 다른 신호값(signal)을 나타낼 수 있는 최소의 농도를 말한다. 여기서는 가장 널리 쓰이는 대로 공시료 신호값과의 차이가 공시료 신호값 표준편차

의 3배인 경우를 검출한계로 하였다²⁷⁾. 즉,

$$y - y_B = 3S_B$$

(y : 공시료 신호값과 통계적으로 유의하게 다른 신호값,
 y_B : 공시료 신호값,
 S_B : 공시료 신호값의 표준편차)

따라서 신호값이 $3S_B + y_B$ 일 때의 물질의 농도를 구하여 검출한계로 하였다.

S_B 와 y_B 는 최소자승법에 의한 검량선으로부터 구하였다. 최소자승법의 기본 가정은 플롯의 각 점의 y 축 방향 변이가 정규분포하며, 그 표준편차 추정치는 $s_{y/x}$ 로 일정하다는 것이다. $s_{y/x}$ 를 S_B 값으로 이용하였고, $s_{y/x}$ 는 다음과 같이 산출하였다.

$$s_{y/x} = \left\{ \frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2} \right\}^{\frac{1}{2}}$$

(여기서 $\hat{y}_i = bx_i + a$)

y_B 는 공시료의 신호값이므로 최소자승법에서 구한 y 절편 값을 대입하였다.

삼염화초산과 삼염화에탄올 표준용액을 이용하여 UV 및 GC법을 이용한 분석 결과로부터 검량선을 작성하고 이를 이용하여 각 분석 방법의 검출한계를 산출하였다.

2. UV법에 의한 분석

(1) 삼염화에탄올의 분석을 위하여 5ml 시험관에 0.5 mL의 소변을 취하여 산화제 0.5 mL를 가하고 10분간 끓는 물에 가열하여 결합형 삼염화에탄올을 유리시켰다.

(2) 반응액 0.8ml를 10mL 시험관에 옮겨 7.8 M 수산화칼륨 용액 1 mL를

가하고 2mL의 피리딘과 0.2 mL의 톨루엔을 가한 다음 내용물을 세게 혼합하였다. 삼염화초산의 분석에는 산화 과정을 거치지 않고 소변 0.8 mL를 수산화칼륨, 피리딘, 톨루엔을 가하여 반응을 진행하였다.

(3) 65도의 오븐에 반응 플라스크를 넣고 50분간 가온하였다.

(4) 반응플라스크를 상온에서 식힌 후 1.5 mL의 피리딘층을 취하고 0.3 mL의 증류수를 가해 잘 섞었다. 증류수를 사용하여 반응 공검액을 만들어 비교하였다.

(5) 피리딘 층을 분리한 후 20분 이내에 10 mm 석영 사각 cell을 사용하여 530 nm에서 UV 흡광도를 측정하였다. 독일국제정도관리 시료 중 삼염화초산 기준값 28.5, 49.1 mg/L의 두 가지 표준시료를 시료와 동일하게 처리하여 분석한 결과로부터 정확도를 구하였다. 첨가량 10 mg/L에 해당하는 시료를 각 비중에 따라 하나씩 선정하여 3회씩 분석한 결과로부터 정밀도를 산출하였다.

3. GC/ECD법에 의한 분석

(1) o-Dichlorobenzene 100 mg을 100 mL 헥산에 녹여 내부표준용액 원액으로 하였다. 내부표준용액 원액을 1 mL 취하여 다시 100mL 헥산으로 희석하여 10 mg/L o-Dichlorobenzene의 추출 용액을 제조하였다.

(2) 표준시료 및 소변 시료 0.2 mL에 황산 0.2 mL, 메탄올 0.1 mL를 가하고 90℃에서 15분간 가온하였다.

(3) 반응이 끝난 뒤 상온에서 반응 바이알을 식혔다.

(4) 내부표준물질이 첨가된 추출 용액 1 mL 가하고 1분간 와류혼합기로 세게 흔들어 추출하였다.

(5) 헥산층을 취하여 가스크로마토그래피용 검액으로 하였다. UV법과 같은 방법으로 독일국제정도관리 시료 중 2 농도의 표준시료를 시료와 동일하게 처리하여 분석한 결과로부터 정확도를 구하였다. 국내 정도관리 시료 2개를 선정하여 3회씩 분석하고, 그 결과로부터 분석의 정밀도를 구하였다.

4. 분석 조건

(1) UV법

- 1) 장비 : Beckman DU-650
- 2) 파장 : 가시부 530 nm

(2) GC/ECD법

- 1) 장비 : Hewlett-Packard GC 5890 Series II
검출기 - 전자포획검출기(Ni^{63} ion source)
- 2) 칼럼 : HP-INNOWAX (30 m x 320 μm x 0.15 μm film thickness)
- 3) 온도 : 주입부 250℃
검출기 250℃
오븐 100℃(5분) - (20℃/분) - 180℃(6분)
- 4) Split ratio 50:1
- 5) 전체 유속 100mL/min
- 6) 이동상 : 초고순도 질소

제 3 장 결 과

1. 반응 효율

산업안전보건연구원에서 역학조사를 통해 수집한 소변에 표준물질을 첨가하여 GC/ECD법과 UV법으로 분석하였다. 소변은 비중 및 크레아티닌 농도별로 4단계로 나누어 64개의 시료를 제조하여 반응 효율을 검토하였다.

Urine	Density	Creatinine
1	1.010	0.623
2	1.010	0.584
3	1.010	0.583
4	1.010	0.755
5	1.015	1.008
6	1.015	1.376
7	1.015	1.385
8	1.015	1.285
9	1.020	1.209
10	1.020	0.785
11	1.020	1.363
12	1.020	0.822
13	1.025	1.490
14	1.025	1.393
15	1.025	1.902
16	1.025	0.749

Table 3. Density and creatinine value of urine samples

Table 4, 5에 UV법과 GC-ECD법에 의한 삼염화초산의 분석 결과를 나타내었다. UV법에 의한 분석 결과 회수율은 첨가값의 65 - 164%였다. 한편, GC-ECD법에 의한 분석 결과는 첨가한 값의 84 - 126% 범위에서 분석값을 내었다.

Spiked conc. (mg/L)	Density of urine	Concentration of TCA(mg/L)					Average $\pm$ Std.dev
		1	2	3	4		
0	1.01	1.5	1.1	0.1	1.4	1.0	± 0.6
5	1.01	4.8	4.3	5.9	7.8	5.7	± 1.5
10	1.01	10.4	9.5	10.6	11.0	10.4	± 0.7
100	1.01	128.5	89.1	103.5	106.6	106.9	± 16.3
0	1.015	0.6	0.5	0.3	2.2	0.9	± 0.9
5	1.015	6.1	5.0	4.5	10.4	6.5	± 2.7
10	1.015	10.0	7.5	8.6	12.1	9.5	± 2.0
100	1.015	88.1	70.5	90.5	133.2	95.6	± 26.6
0	1.02	1.0	0.4	4.6	1.8	2.0	± 1.8
5	1.02	7.0	4.7	9.2	7.4	7.1	± 1.9
10	1.02	11.7	7.5	13.6	11.1	11.0	± 2.5
100	1.02	97.9	76.8	93.7	110.7	94.8	± 14.0
0	1.025	1.7	0.7	1.6	1.7	1.4	± 0.5
5	1.025	5.9	4.9	5.3	-	5.4	± 0.5
10	1.025	9.2	8.2	8.6	11.1	9.3	± 1.3
100	1.025	91.6	76.3	112.2	116.5	99.2	± 18.8

Table 4. Analysis of TCA in urine samples by UV method

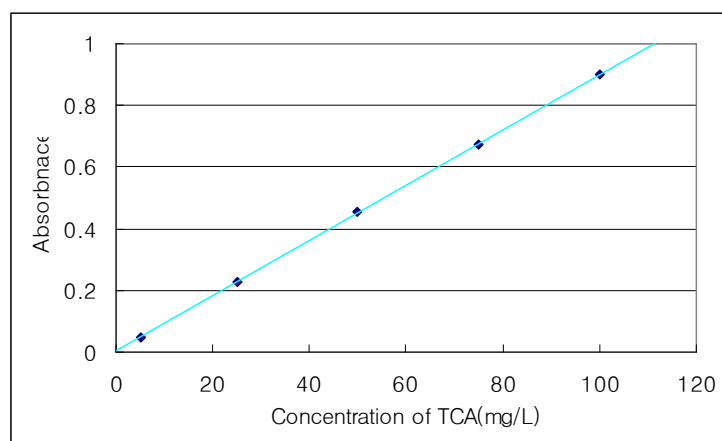


Fig. 1. Calibration curve of TCA by UV method ($R : 0.99998$,
slope : 8.9×10^{-3} , intercept : 4.8×10^{-3})

UV법에 의한 삼염화초산의 분석 결과 삼염화초산 5 - 100 mg/L 범위에서 흡광도는 0.05 - 0.90이었고 상관계수 0.99998의 양호한 직선성을 나타내었다 (Fig. 1).

Spiked conc. (mg/L)	Density of urine	Concentration of TCA(mg/L)					Average $\pm$ Std.dev	
		1	2	3	4			
0	1.01	-	-	-	-	-	-	-
5	1.01	4.8	5.7	4.8	5.6	5.2	$\pm$ 0.5	
10	1.01	9.6	9.4	8.6	9.9	9.4	$\pm$ 0.6	
100	1.01	97.8	95.3	101.8	103.9	99.7	$\pm$ 3.9	
0	1.015	-	-	-	-	-	-	-
5	1.015	4.8	5.1	5.1	6.2	5.3	$\pm$ 0.6	
10	1.015	8.9	9.8	9.4	9.8	9.5	$\pm$ 0.4	
100	1.015	92.3	97.3	104.2	103.9	99.5	$\pm$ 5.7	
0	1.02	-	-	-	-	-	-	-
5	1.02	5.3	5.2	5.9	5.2	5.4	$\pm$ 0.3	
10	1.02	9.1	9.4	9.4	9.5	9.4	$\pm$ 0.2	
100	1.02	92.4	97.5	104.9	97.8	98.1	$\pm$ 5.1	
0	1.025	-	-	-	-	-	-	-
5	1.025	5.2	6.2	5.2	4.4	5.3	$\pm$ 0.7	
10	1.025	9.9	9.4	9.8	9.3	9.6	$\pm$ 0.3	
100	1.025	101.7	84.2	103.8	101.9	97.9	$\pm$ 9.2	

Table 5. Analysis of TCA in urine samples by GC-ECD method

삼염화초산을 GC법-ECD법에 의하여 분석한 경우 25 - 175 mg/L 범위에서 검량선의 상관계수는 0.99995로 양호한 직선성을 나타내었다(Fig.2). 삼염화초산은 4.8분, 내부표준물질은 6.8분, 삼염화에탄올은 9.5분에 검출되었다(Fig. 3).

분석 방법의 정확도를 구하기 위해 매 분석마다 국제정도관리 시료를 같이

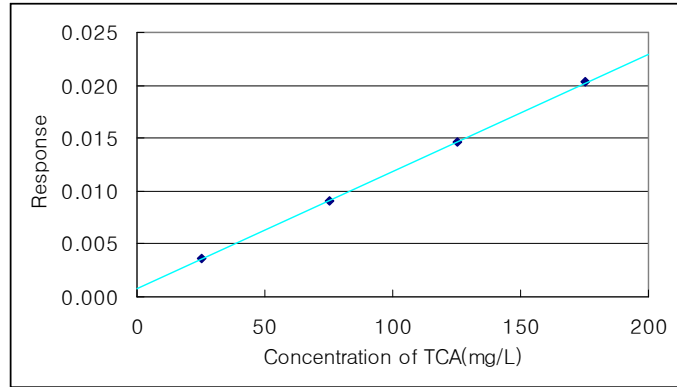


Fig. 2. Calibration curve of TCA by GC-ECD method (R : 0.99995, slope : 1.1×10^{-4} , intercept : 8.1×10^{-4})

분석하고, 산출한 결과를 기준값과 비교하였다. UV법에 의한 분석의 정확도는 표준용액을 탈이온수로 제조하여 분석한 경우 69 - 81%였고, 표준용액을 정상인의 소변을 이용하여 제조, 분석한 경우 93 - 96%로 나타났다. 정밀도를 구하기 위해 0.10, 0.15, 0.20, 0.25의 네 가지 비중의 소변 시료 중 하나씩을 선정하여 3회씩 분석한 결과, 평균 회수율은 85%, 변이계수는 2.5 - 8.8%였으며, 이때 독일정도관리 시료를 이용하여 구한 분석의 정확도는 평균 93%였다.

GC-ECD법에 의한 분석의 경우는 89 - 102%의 정확도로 삼염화초산의 분석이 가능하였다. 국내 정도관리 시료 2개를 선정하여 3회씩 분석한 결과, 분석 결과의 정확도는 98%였으며 변이 계수는 3.2% 이하였다.

Table 6에 GC-ECD법에 의한 삼염화에탄올의 분석 결과를 나타내었다. 삼염화에탄올의 회수율은 첨가 값의 89 - 110% 범위에 있었다. GC-ECD법에 의하여 작성한 삼염화에탄올의 검량선은 37 - 259 mg/L 범위에서 상관계수 0.99997로 양호한 직선성을 나타내었다(Fig. 4). 국내 정도관리 시료 2개를 선정하여 3회씩 분석한 결과, 분석 결과의 정확도는 101%였으며 변이 계수는 3.4% 이하였다.

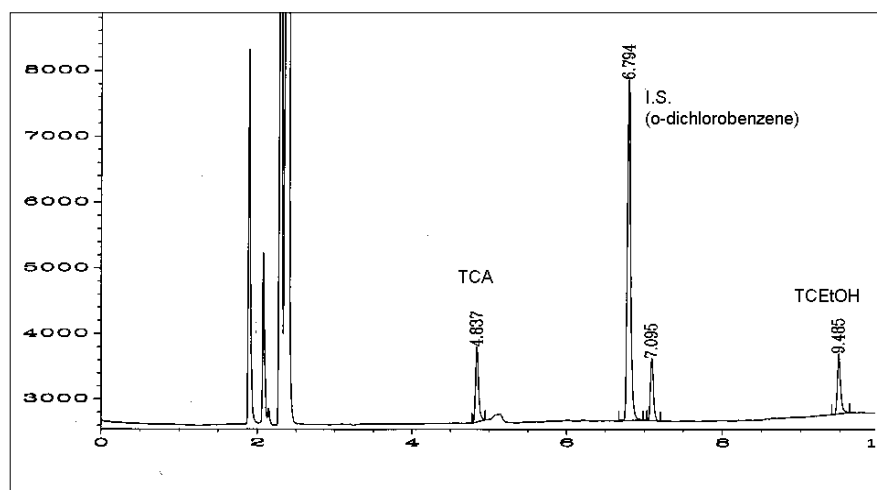


Fig. 3. Chromatogram of TCA and TCE by GC-ECD

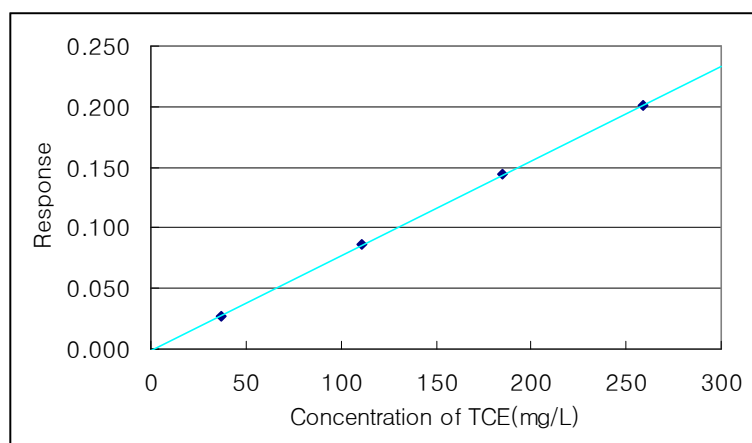


Fig. 4. Calibration curve of TCE by GC-ECD method ($R : 0.99997$, slope : 8.0×10^{-4} , intercept : -1.3×10^{-3})

Spiked conc. (mg/L)	Density of urine	Concentration of TCE(mg/L)					
		1	2	3	4	Average $\pm$ Std.dev	
0	1.01	–	–	–	–	–	–
10	1.01	9.9	9.8	9.3	10.3	9.8	± 0.4
20	1.01	20.3	20.6	20.4	21.6	20.7	± 0.6
200	1.01	195.8	200.6	202.5	195.4	198.5	± 3.5
0	1.015	–	–	–	–	–	–
10	1.015	9.0	9.9	9.7	10.9	9.9	± 0.8
20	1.015	20.1	20.5	20.7	21.1	20.6	± 0.4
200	1.015	186.6	198.5	194.5	205.9	196.4	± 8.0
0	1.02	–	–	–	–	–	–
10	1.02	8.9	9.3	10.3	10.5	9.7	± 0.8
20	1.02	20.0	20.1	20.9	21.1	20.5	± 0.6
200	1.02	190.2	190.5	195.5	201.0	194.3	± 5.1
0	1.025	–	–	–	–	–	–
10	1.025	9.4		10.3	10.5	10.1	± 0.6
20	1.025	19.8		21.8	22.0	21.2	± 1.2
200	1.025	193.3		198.0	208.9	200.1	± 8.0

Table 6. Analysis of TCE in urine samples by GC-ECD method

2. 검출 한계

삼염화초산과 삼염화에탄올 표준용액의 분석 결과로부터 검출한계를 산출

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	LINEAR CORRELATION, $y=bx+a$ (Conc.=x, Signal=y)												
2													
3	y=	2013.27	* x +	342.4	r=	0.99815	Avg(x)=	0.44955					
4	(x=	0.0005	* y +	-0.17)			Avg(y)=	1247.5					
5					lin.cor. t=	23.2173	n=	4					
6							n-2=	2					
7							S y/x=	57.5912					
8							S b=	86.7141					
9							S a=	48.4645					
10							LOD=	0.08582	(3SD)	515.21			
11													
12	After input the STD data, edit I15, J15, K15, L15 cell.												
13	To get S xo, edit P column.												
14	Conc.	Signal	Type	S xo	y^	xi-Avg(x)	yi-Avg(y)	yi-y^	F*F	G*G	F*G	H*H	A*A
15	(x)	(y)							0.441	2E+06	888	6633	1.249
16	0.0972	565	STD	/	538.126	-0.35235	-682.5	26.8742	0.124	465806	240	722.2	0.009
17	0.243	846	STD	/	831.66	-0.20655	-401.5	14.34	0.043	161202	82.9	205.6	0.059
18	0.486	1251	STD	/	1320.88	0.03645	3.5	-69.8835	0.001	12.25	0.13	4884	0.236
19	0.972	2328	STD	/	2299.33	0.52245	1080.5	28.6693	0.273	1E+06	565	821.9	0.945

Fig 5. Calculation of detection limit of trichloroacetic acid (GC-ECD)

하였다. GC법에 의한 삼염화초산의 검출한계는 0.09mg/L(Fig 5), 삼염화에탄올의 경우는 0.005mg/L의 검출한계를 나타내었다(Fig. 6).

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	LINEAR CORRELATION, $y=bx+a$ (Conc.=x, Signal=y)												
2													
3	y=	12686.5	* x +	8.557	r=	0.99942	Avg(x)=	0.04995					
4	(x=	7.9E-05	* y +	-0)			Avg(y)=	642.25					
5					lin.cor. t=	41.6463	n=	4					
6							n-2=	2					
7							S y/x=	22.4797					
8							S b=	304.626					
9							S a=	18.9173					
10							LOD=	0.00532	(3SD)	75.996			
11													
12	After input the STD data, edit I15, J15, K15, L15 cell.												
13	To get S xo, edit P column.												
14	Conc.	Signal	Type	S xo	y^	xi-Avg(x)	yi-Avg(y)	yi-y^	F*F	G*G	F*G	H*H	A*A
15	(x)	(y)							0.005	877477	69.1	1011	0.015
16	0.0108	126	STD	/	145.572	-0.03915	-516.25	-19.5716	0.002	266514	20.2	383	1E-04
17	0.027	361	STD	/	351.094	-0.02295	-281.25	9.90629	5E-04	79102	6.45	98.13	7E-04
18	0.054	714	STD	/	693.631	0.00405	71.75	20.3695	2E-05	5148.1	0.29	414.9	0.003
19	0.108	1368	STD	/	1378.7	0.05805	725.75	-10.7041	0.003	526713	42.1	114.6	0.012

Fig 6. Calculation of detection limit of trichloroethanol (GC-ECD)

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	LINEAR CORRELATION, $y=bx+a$ (Conc.=x, Signal=y)												
2													
3	y=	0.01282	* x +	-0	, r=	0.99973	Avg(x)=	25					
4	(x=	78.0031	* y +	0.374)			Avg(y)=	0.3157					
5					lin.cor. t=	74.582	n=	5					
6							n-2=	3					
7							S y/x=	0.00666					
8							S b=	0.00017					
9							S a=	0.00523					
10							LOD=	1.55788	(3SD)	0.0152			
11													
12	After input the STD data, edit I15, J15, K15, L15 cell.												
13	To get S xo, edit P column.												
14	Conc.	Signal	Type	Sxo	y^	xi-Avg(x)	yi-Avg(y)	yi-y^	F*F	G*G	F*G	H*H	A*A
15	(x)	(y)							1500	0.2467	19.2	1E-04	4625
16	5	0.0577	STD	/	0.0593	-20	-0.258	-0.0016	400	0.0666	5.16	3E-06	25
17	10	0.1264	STD	/	0.1234	-15	-0.1893	0.003	225	0.0358	2.84	9E-06	100
18	20	0.253	STD	/	0.2516	-5	-0.0627	0.0014	25	0.0039	0.31	2E-06	400
19	40	0.499	STD	/	0.508	15	0.1833	-0.009	225	0.0336	2.75	8E-05	1600
20	50	0.6424	STD	/	0.6362	25	0.3267	0.0062	625	0.1067	8.17	4E-05	2500

Fig 7. Calculation of detection limit of trichloroacetic acid (UV)

한편, UV법에 의한 삼염화초산의 검출한계는 1.6mg/L로 산출되었다(Fig 7).

GC-ECD에 의한 분석 결과는 UV법에 의한 결과에 비해 양호한 회수율을 보였으며, 밀도나 크레아티닌 값 등으로 표시되는 소변 농도의 변이에 의한 차

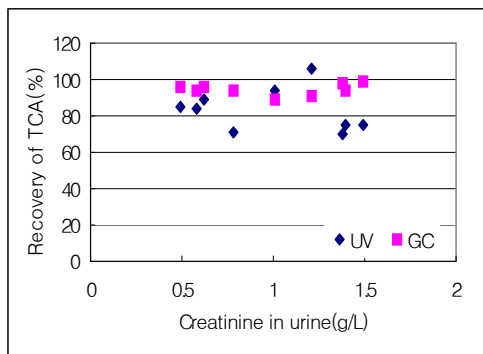


Fig. 8. Recovery of 10 mg/L of TCA in urine with different creatinine value

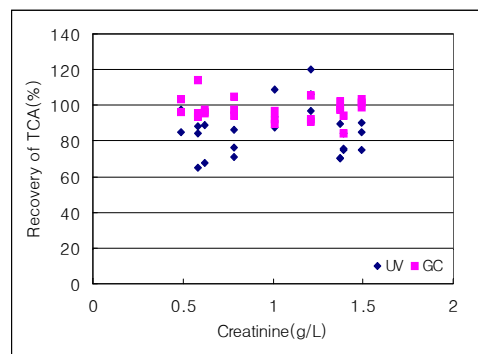


Fig. 9. Recovery of 5 - 100 mg/L of TCA in urine with different creatinine value

이를 보이지 않았다(Fig. 8 - 11).

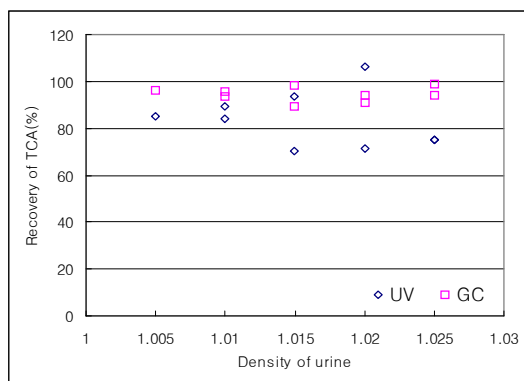


Fig. 10. Recovery of 10 mg/L of TCA in urine with different density value

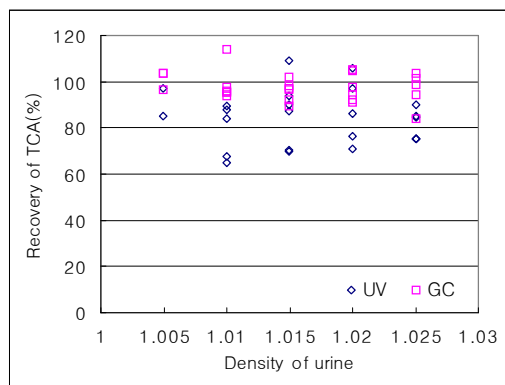


Fig. 11. Recovery of 5 - 100 mg/L of TCA in urine with different density value

제 4 장 고 찰

삼염화에틸렌과 삼염화에탄은 결합형(conjugated) 삼염화에탄올과 삼염화초산으로 대사되어 소변으로 배설되며, 퍼클로로에틸렌은 삼염화초산으로 대사되어 배설된다. 소변 중 총 삼염화물은 결합형(conjugated) 삼염화에탄올과 삼염화초산의 총량으로 산출한다. 결합형 삼염화에탄올을 유리상태로 만든 뒤 산화제를 사용하여 삼염화초산으로 만든 뒤, 삼염화초산이 강알카리성에서 피리딘과 결합하여 적색을 띄는 성질을 이용하여 총 삼염화물을 정량한다. 결합형(conjugated) 삼염화에탄올을 그냥 놔두고 알카리성 피리딘 시약을 사용하면 삼염화초산만 반응하게 되므로 소변 중 삼염화초산의 양을 정량할 수 있다.

한편, 삼염화초산은 휘발성이 없으므로 GC 분석을 위해서는 삼염화초산에 메틸기를 도입하여 휘발성을 부여하여 분석한다. 삼염화에탄올의 포합체는 산으로 가수분해하여 유리형 삼염화에탄올의 형태로 분석해야 한다. 이들 총 삼염화물의 분석에는 헤드스페이스 GC와 전자포획검출기(Electron capture detector; ECD)를 사용하여 헤드스페이스 시료자동주입기에서 메틸기 도입 반응과 시료 주입을 자동적으로 수행하는 방법이 권장되었다. 그러나 대부분의 기관에서는 고가의 헤드스페이스 시료자동주입기를 갖추지 못하여 이 방법을 일반적인 방법으로 적용하기에는 어려움이 있었다. 따라서 이런 경우에 적용할 수 있는 방법으로, 산성조건에서 삼염화초산을 메틸유도체화함과 동시에 삼염화에탄올의 포합체를 가수분해한 후 유기용매로 추출하여 이 추출액을 가스크로마토그래피에 직접 주입하는 방법을 1998년 산업안전보건연구원 연구결과보고서에 소개하였다. 그리고, 본 연구를 통해 이 분석 방법에 대한 평가를 수행한 자료를 제공하고자 하였다.

생물학적 모니터링을 위한 삼염화초산의 분석법 비교 결과 UV법에 의한

분석 결과는 첨가값의 65 - 164%의 회수율을 나타내었고, GC-ECD법에 의한 분석 결과는 첨가한 값의 89 - 114% 범위의 회수율을 나타내어 UV법을 사용할 경우 GC-ECD법에 의한 분석 결과에 비해 저조하거나 변이가 큰 회수율을 나타내었다.

분석의 정확도를 구하기 위하여 기준값이 알려져 있는 정도관리 시료를 매 분석시에 분석 대상 시료와 같이 분석하였다. UV법의 경우, 표준 용액을 증류수로 제조한 경우 분석 결과의 정확도가 69 - 81%였고, 표준 용액에 정상인 소변 성분이 포함된 경우 93 - 96%의 정확도를 나타내었다. 이는 Angerer 등에 의하여 정리된 분석 방법의 회수율 범위에 해당하였다²⁴⁾. 한편 GC-ECD법을 이용한 분석 결과는 평균 92 - 102%의 정확도를 나타내었다. 이와 같이 분석 회수에 따라 정확도의 변이를 보여, 본 연구의 목표 중 하나인 보정 계수 산출은 어려웠으며, 기준 시료를 분석하여 그 분석 결과로부터 시료 분석값을 보정하는 것이 적절하였다.

검출 한계는 GC-ECD법에서 삼염화초산이 0.09 mg/L, 삼염화에탄올이 0.005 mg/L로, UV법에 의해 산출된 검출한계인 1.6 mg/L보다 낮은 값을 분석할 수 있다. 현재 삼염화에틸렌의 생물학적 노출 지표로서 삼염화초산을 적용할 경우에는 노출 기준이 100 mg/L로, 검출 한계가 1 mg/L보다 낮은 것이 중요하지 않으나, 퍼클로로에틸렌의 노출 지표로서 삼염화초산을 적용할 경우에는 삼염화초산의 생물학적 노출 기준이 5 mg/L이므로 UV법을 적용할 경우 검출한계와 노출기준이 유사한 농도 범위에 존재하여 분석 결과의 신뢰성이 의심될 수 있다. 따라서 퍼클로로에틸렌의 노출 지표로서 저농도의 삼염화초산을 적용할 경우에는 GC-ECD법이 적절하다.

이상에서, 생물학적 모니터링을 위한 삼염화초산의 분석 시 퍼클로로에틸렌

의 생물학적 모니터링과 같이 저농도의 시료 분석에는 보다 미량의 시료를 양호한 회수율로 분석할 수 있는 GC-ECD법이 적절하다고 사료된다. 삼염화에틸렌과 같이 생물학적 모니터링의 지표물질인 삼염화초산의 노출기준이 100mg/g creatinine 수준의 시료 분석에는 UV법에 의한 분석 방법도 양호한 결과를 얻을 수 있다. 그러나 분석에 따른 변이가 예상되므로 매 분석 시마다 기준 시료를 분석한 값으로 결과의 확인 및 보정이 요구된다.

참고문헌

1. N. W. Paik *et al.*, Trichloroethylene poisoning in degreasing process of an electric appliances manufacturing, Kor. J. Occup. Health, 9(2), 4-8(1970)
2. A. C. Monster, R. L. Zielhufs, Chlorinated hydrocarbon solvents, Commission of the European communities, Luxemburg(1983)
3. C. Y. Kim *et al.*, Trichloroethylene exposure of workers employed in degreasing process of metal manufacturing, Kor. J. Occup. Health, 28(4), 126-137(1989)
4. Y. H. Moon *et al.*, Health hazard of workers potentially exposed to trichloroethylene in the Inchon area, The Kor. J. Occup. Med., 4(1), 14-19(1992)
5. R. Kish *et al.*, Acute effects of trichloroethylene on blood concentrations and performance decrements in rats and their relevance to humans, British J. Ind. Med., 50, 470-480(1993)
6. K. H. Lee and N.W.Paik, a study on worker exposure to trichloroethylene and emission factor for degreasers in plating plants, Kor. Ind. Hyg. Assoc. J., 3(1), 3-13(1993)
7. H. Arito *et al.*, Electroencephalographic and autonomic responses to trichloroethylene inhalation in freely moving rats, Arch. Toxicol., 67, 193-199(1993)
8. K. J. Lee *et al.*, Effects of ethanol and phenobarbital on metabolism of trichloroethylene in rats, The Kor. J. Occup. Med., 5(1), 76-86(1993)
9. H. Arito *et al.*, effects of subchronic inhalation exposure to low level trichloroethylene on heart rate and wakefulness-sleep in freely moving

- rats, Jpn. J. Ind. Health, 36, 1-8(1994)
10. NIOSH, NIOSH Manual of Analytical Methods, 4th ed., (1994)
 11. S. Tanaka and M. Ikeda, A method for determination of trichloroethanol and trichloroacetic acid in urine, British J. Ind. Med., 25, 214-219(1968)
 12. M. Ogata *et al.*, A simple method for the quantitative analysis of urinary trichloroethanol and trichloroacetic acid as an index of trichloroethylene exposure, British J. Ind. Med., 27, 378-381(1970)
 13. M. Ikeda and H. Ohtsuji, A comparative study of the excretion of Fujiwara reaction-positive substances in urine of humans and rodents given trichloro- or tetrachloro-derivatives of ethane and ethylene, British J. Ind. Med., 29, 99-104(1972)
 14. H. Nomiyama *et al.*, Gas-liquid chromatographic determination of trichloroethylene metabolites in urine, Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 39, 506-510(1978)
 15. M. Ogata *et al.*, A new microdetermination method used in an analysis of the excretion of trichloro-compounds in the urine of workers exposed to trichloroethylene vapour, Ind. Health, 25, 103-112(1987)
 16. H. A. Kim and K. M. Lee, Urinary excretion of total trichloro-compounds and air trichloroethylene concentration in trichloroethylene related workers, Kor. J. Occup. Health, 28(1), 9-13(1989)
 17. O. Inoue *et al.*, Relationship between vapor exposure and urinary metabolite excretion among workers exposed to trichloroethylene, Am. J. Industrial Med., 15, 103-110(1989)
 18. H. Jeon and H. Kim, The relationship between airborne

- trichloroethylene concentrations and total trichloro-compounds and trichloroacetic acid in urine, Kor. Ind. Hyg. Assoc. J.,4(1), 7-16(1994)
19. J. S. Yang *et al.*, Simultaneous determination of trichloroethanol and trichloroacetic acid in urine by headspace gas chromatography, Korea industrial safety corporation, Seong-Il Inc., Seoul(1994)
 20. A. S. Bangalore *et al.*, Automated detection of trichloroethylene by Fourier transform infrared remote sensing measurements, Anal. Chem, 69, 118-129(1997)
 21. D. Breimer, H. Ketelaars and J. Rossum, Gas chromatographic determination of chloral hydrate, trichloroethanol and trichloroacetic acid in blood and in urine employing head-space analysis, J. Chromatography, 88, 55-63(1974)
 22. J. M. Cristensen *et al.*, Automatic headspace gas chromatographic method for the simultaneous determination of trichloroethylene and metabolites in blood and urine, J. Chromatogr., 442, 317-323(1988)
 23. A. Ohara *et al.*, Determination of trichloroacetic acid and trichloroethanol by head-space gas chromatography(HS GC), Jpn. J. Ind. Health, 83, 94-103(1991)
 24. Working Group Analytical Chemistry, edited by J. Angerer and K.H. Schaller, Analyses of Hazardous substances in biological materials, vol1, p.211, 1992
 25. WHO/HPR/OCH, Biological monitoring of chemical exposure in the workplace; 1998
 26. TCE폭로 근로자의 생물학적 모니터링에 관한 연구, 한국산업안전공단 연구자료 94-5-8, 1994
 27. J. C. Miller and J. N. Miller, statistics for analytical chemistry,

115-117, 1988

전자포획 검출기 (Electron Capture Detector, ECD)

이 검출기는 감도가 극히 예민한 것이 특징이며 전자친화력이 있는 화합물, 즉 할로젠 화합물에 민감하게 반응하여 고감도로 이 화합물을 검출한다. 따라서 할로젠족 원소 중 염소를 포함하는 염화탄화수소류의 미량 검출에도 적합하다. 검출기를 구성하는 주요 부분은 방사성 동위원소(대개 250mCi ^3H 나 10mCi ^{63}Ni 를 사용), 음극 및 양극이다. 가스크로마토그래피의 운반기체(N_2 나 Ar에 10% CH_4 가스혼합)가 동위원소에 의해 이온화되어 생성된 전자흐름(standing current라 하며 10^{-8} amps정도)에 비교적 약한 전기장을 걸어 준다. 전자를 포획하는 물질, 즉 할로젠 화합물이 이 검출기를 지나가면 물질을 구성하는 할로젠 원소가 검출기 내의 전자를 포획하여 전자 흐름이 감소하고, 이 반응을 검출하여 피크로 나타냄으로써 물질의 정량이 가능하다.

전자포획 검출기의 반응메카니즘은 시료분자(AB)가 전자와 반응하여 자유라디칼과 음이온으로 해리하는 해리반응($\text{AB} + e^- \rightarrow \text{A}^\cdot + \text{B}^-$)과 시료분자가 전자와 반응하여 분자음이온을 생성하는 nondissociative 반응($\text{AB} + e^- \rightarrow \text{AB}^-$) 및 전자를 흡수하는 화합물에서 좁은 범위의 전자에너지 이상으로 흡수단면이 크게 증가할 때 나타나는 공명전자흡수(resonance electron absorption)과정 등으로 설명된다. 검출기 개발 초기에는 이 반응의 이온화원(source)으로 직선농도범위가 넓은 ^3H 가 사용되었으나 오늘날에는 350. C 까지 가열할 수 있고, 검출기의 오염을 감소시키며, 화합물에 대하여 감도가 큰 ^{63}Ni 가 사용된다.

ECD의 선택성을 다음 표에 나타내었다. Alkyl halides, conjugated carbonyls, nitriles, nitrates, 유기금속화합물에 대해 상당히 감도가 높으나 탄화수소, 알코올, 케톤 등에는 감도가 낮다. 특히 할로젠 원소에 대해서 감도가 높고 감도는 $\text{I} > \text{Br} > \text{Cl} > \text{F}$ 의 순으로, 특히 유기염소계의 농약분석이나 PCB (polychlorinated biphenyls) 등의 환경오염시료의 분석에 많이 사용되고

있고 어떤 농약의 경우에는 10^{-12}g 이하의 농도도 측정이 가능하다. 또한 이 검출기는 감도가 농도에 비례하는 검출기이다.

Factor	Compound or class
1	Aliphatic hydrocarbons
1 - 10	Aromatic hydrocarbons Alcohols, ketones, ethers Monofluoro compounds
$10 - 10^{-2}$	Amines, esters, aldehydes, nitriles Monochloro compounds Trifluoro compounds
$10^2 - 10^3$	Dichloro aliphatic compounds (some) Stilbenes Oxalates
$10^3 - 10^4$	Dichloro aliphatic compounds (some) Monobromo compounds Hexafluoro compounds
$10^4 - 10^5$	Dichloro aromatic compounds Mononitro compounds
10^5	Monoiodo compounds Dibromo compounds Trichloro (or greater) compounds

Electron capture relative response factors(benzene=1)

유기용제 대사산물의 규명과 분석에 관한 연구(I)
- 염화탄화수소류 대사산물의 분석을 위한 GC(가스 크로마토그래피)와 UV(자외가시부분광광도계)법 응용 -

(연구원 2002 - 1 - 1)

발 행 일 : 2001년 12월 31일
발 행 인 : 산업안전보건연구원 원장 정호근
연구책임자 : 직업병연구센터 선임연구원 이미영
발 행 처 : 한국산업안전공단 산업안전보건연구원
주 소 : 인천광역시 부평구 구산동 34-4
전 화 : (032) 5100 - 925
F A X : (032) 5180 - 862
