

연구보고서

생물학적 노출평가 표준시료 개발(5) : 소변 중 1,2-디클로로프로판

이미영

산업재해예방

안전보건공단

산업안전보건연구원



요 약 문

연구기간

2020년 1월 ~ 2020년 11월

핵심단어

특수건강진단기관 분석정도관리, 소변 중 1,2-디클로로프로판, 표준 시료, 균질성, 안정성

연구과제명

생물학적 노출평가 표준시료 개발(5): 소변 중 1,2-디클로로프로판

1. 연구배경

연구원에서는 근로자 건강진단을 위한 생물학적 노출평가 분석의 신뢰성을 확인하고 향상하기 위하여 특수건강진단기관 분석정도관리를 수행하고 있다. 분석정도관리는 1995년 유기, 무기분석 각 1항목으로 시작하였으며, 2005년까지 15항목의 표준시료를 정도관리 항목으로 운영해 왔다. 2015년부터 연차적으로 국내 생물학적 노출 평가에 필요한 분석 항목을 추가로 개발하여, 2020년에 유기 분석 12 항목, 무기 분석 8 항목 등 총 20 항목의 표준시료 제공이 가능하였다. 본 연구는 국내 생물학적 노출평가 수행에 필요한 소변 중 1,2-디클로로프로판 표준 시료를 개발하고, 이를 분석정도관리에 활용하고자 하였다.

2. 주요 연구내용

- 연구결과

2021년부터 생물학적 노출평가 1차 항목으로 추가되는 소변 중 1,2-디클로로프로판을 연구 대상으로 선정하였다. 소변 중 1,2-디클로로프로판을 헤드스페이스 가스크로마토그래프-질량분석검출기(HS GC-MSD)로 분석하

였고 소변 중 1,2-디클로로프로판 시료의 균질성을 조사한 결과, 조제한 3 가지 농도의 시료는 모두 균질하였음을 확인하였다. 시료를 조제한 후 상온, 냉장, 냉동, 초저온 냉동 온도에서 1 주일과 1 개월 보관 후 1,2-디클로로프로판의 안정성을 조사하였다.

- 시사점

본 연구 결과로부터 소변 중 1,2-디클로로프로판의 분석 방법을 정립하여 국내 특수건강진단기관에 제시하고, 이 항목을 특수건강진단 분석정도관리 항목에 추가하여 운영하면 국내 1,2-디클로로프로판 노출 근로자의 생물학적 노출평가 능력 향상에 기여할 것으로 기대한다.

3. 연구 활용방안

본 연구 결과를 근거로 특수건강진단기관 정도관리 항목에 소변 중 1,2-디클로로프로판을 추가하여 정도관리 사업에 연구 결과를 직접적으로 활용함으로써 1,2-디클로로프로판 노출 근로자의 생물학적 노출 평가의 신뢰도 향상 및 이를 통한 근로자의 건강을 보호한다.

4. 연락처

- 산업안전보건연구원 직업건강연구실 이미영

■ ☎ 052) 703 - 0855

■ E-mail: cookmom@kosha.or.kr

차례

I. 서론	1
1. 연구 배경	1
2. 연구 목적	7
II. 연구 방법	8
1. 개발 항목 선정	8
2. 표준 시료 조제	9
3. 실험 방법	9
4. 표준 시료 신뢰도	13
III. 연구결과	14
1. 분석방법 신뢰도	14
2. 표준시료 신뢰도	16
IV. 고찰 및 결론	19
참고문헌	21
ABSTRACT	24
부 록	26
1. 정도관리 표준시료 개발 과정	26
2. 균질성 평가(BAM,2004)	27
3. 안정성 평가(BAM,2004)	28

표 차 례

〈표 1〉 특수건강진단 분석정도관리 표준시료 개발 현황	1
〈표 2〉 유기화합물 생물학적 노출평가 1차 항목의 노출기준값 및 검사방법 ..	2
〈표 3〉 유기화합물 생물학적 노출평가 2차 항목의 노출기준값 및 검사방법 ..	3
〈표 4〉 유기화합물 생물학적 노출평가 권장 항목의 노출기준값 및 검사방법	4
〈표 5〉 금속류 생물학적 노출평가 1차 항목의 노출기준값 및 검사방법 ..	4
〈표 6〉 금속류 생물학적 노출평가 2차 항목의 노출기준값 및 검사방법 ..	5
〈표 7〉 금속류 생물학적 노출평가 권장 항목의 노출기준값 및 검사방법 ..	5
〈표 8〉 가스 상태 물질류 생물학적 노출평가 항목의 노출기준값 및 검사방법	6
〈표 9〉 허가 대상 유해물질 생물학적 노출평가 권장 항목의 노출기준값 및 검사방법	6
〈표 10〉 표준시료 개발 장기 계획	8
〈표 11〉 헤드스페이스 가스크로마토그래프-질량분석검출기 분석 조건 예시	11
〈표 12〉 1,2-디클로로프로판 첨가 시료 균질성 검토결과	17
〈표 13〉 1,2-디클로로프로판 첨가 시료 안정성 검토 결과	18
〈표 14〉 소변 중 1,2-디클로로프로판 실험실간 분석결과 비교	18

그림차례

[그림 1] 1,2-디클로로프로판 검량선 예시(내부표준물질 보정)	14
[그림 2] 1,2-디클로로프로판, 플루오로벤젠 질량스펙트럼	15
[그림 3] 1,2-디클로로프로판, 플루오로벤젠 크로마토그램	15
[그림 4] 정도관리 표준시료 개발 단계 및 세부 수행 사항	26

I. 서론

1. 연구 배경

산업안전보건연구원에서는 1995년부터 2020년까지 수행한 특수건강진단 분석정도관리를 통해 유기분석 12항목, 무기분석 8항목 등 총 20항목의 생물학적 노출평가 분석 신뢰도 확인을 위한 시료를 제공하였다(<표 1>).

<표 1> 특수건강진단 분석정도관리 표준시료 개발 현황

연도	분석정도관리 추가 항목	
	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 뮤콘산, 소변 중 2,5-헥산디온	소변 중 카드뮴
2008	소변 중 엔메틸아세트아미드(NMAC)	
2015		소변 중 비소
2016	소변 중 페놀	
2017		소변 중 니켈
2018	소변 중 o-크레졸	
2019		소변 중 크롬

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, 2020), 아직 분석 항목에 대한 표준물질로 제공하지 못하는 항목들이 있다(<표 2~9>).

**<표 2> 유기화합물 생물학적 노출평가 1차 항목의 노출기준값 및
검사방법 : 유해물질 15 종의 생물학적 노출 평가 10 항목**

유해물질명	시료채취		지표물질명	권장분석법	노출기준		비고
	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	%	
N,N-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	"
1,2-디클로로프로판	소변	당일	1,2-디클로로프로판	GC-MSD	180	µg/L	
메틸클로로포름	소변	주말	삼염화초산	GC-ECD	10	mg/L	
	소변	주말	총삼염화에탄올	GC-ECD	30	mg/L	
아닐린 및 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	o-크레졸	GC-FID	0.8	mg/g crea	"
트리클로로에틸렌	소변	주말	총삼염화물	GC-ECD	300	mg/g crea	"
	소변	주말	삼염화초산	GC-ECD	15	mg/L	"
퍼클로로에틸렌	소변	주말	삼염화초산	GC-ECD	3.5	mg/L	"
n-헥산	소변	당일	2,5-헥산디온	GC-FID	5	mg/L	"

<표 3> 유기화합물 생물학적 노출평가 2차 항목의 노출기준값 및 검사 방법 : 유해물질 14 종의 생물학적 노출 평가 18 항목

유해물질명		시료채취		지표물질명	권장분석법	노출기준		비고
		종류	시기					
p-디메틸 아미노아조벤젠		혈액	수시	메트헤모글로빈	혈액가스분석	1.5	%	
디클로로메탄		혈액	당일	카복시헤모글로빈	혈액가스분석	3.5	%	
메탄올		소변	당일	메탄올	HS GC-FID	15	mg/L	
		혈액	당일	메탄올	HS GC-FID			
메틸 n-부틸 케톤		소변	당일	2, 5-헥산디온	GC-FID	5	mg/g crea	정도관리항목
메틸 에틸 케톤		소변	당일	메틸에틸케톤	HS GC-FID	2	mg/L	
메틸 이소부틸 케톤		소변	당일	메틸이소부틸케톤	HS GC-FID	2	mg/g crea	
벤젠	1 ppm 기준	소변	당일	뮤콘산	HPLC-UVD	500	μg/g crea	정도관리항목
		혈액	당일	벤젠	HS GC-MSD	5	μg/L	
	10 ppm 기준	소변	당일	페놀	GC-FID	50	mg/g crea	정도관리항목
아세톤		소변	당일	아세톤	HS GC-FID	80	mg/L	
2-에톡시에탄올		소변	주말	2-에톡시초산	GC-FID	100	mg/g crea	
이소프로필 알코올		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	
페놀		소변	당일	페놀	GC-FID	250	mg/g crea	정도관리항목
펜타클로로페놀		소변	주말	펜타클로로페놀	HPLC-UVD			
		혈액	당일	유리펜타클로로페놀	HPLC-UVD	5	mg/L	

(근로자건강진단실무지침, 2020)

**<표 4> 유기화합물 생물학적 노출평가 권장 항목의 노출기준값 및
검사방법 : 유해물질 5 종의 생물학적 노출 평가 6 항목**

유해물질명	시료채취		지표물질명	권장분석법	노출기준		비고
	종류	시기					
벤젠(1 ppm 기준)	소변	당일	S-페닐머캅토산	GC-MSD	25	µg/g crea	
스티렌	소변	당일	만델릭산 + 페닐글리옥실산	HPLC-UVD,GC-FID	600	mg/g crea	정도관리항목
	소변	당일	스티렌	HS GC-FID	40	µg/L	
이황화탄소	소변	당일	TTCA	HPLC-UVD	0.5	mg/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, 2020)

**<표 5> 금속류 생물학적 노출평가 1차 항목의 노출기준값 및
검사방법 : 유해물질 5 종의 생물학적 노출 평가 4 항목**

유해물질명	시료채취		지표물질명	권장분석법	노출기준		비고
	종류	시기					
납 및 그 무기화합물	혈액	수시	납	AAS	30	µg/dL	정도관리항목
사알킬납	혈액	수시	납	AAS	30	µg/dL	"
수은 및 그 화합물	소변	작업전	수은	AAS	50	µg/g crea	"
인듐	혈청	수시	인듐	ICP-MS	1.2	µg/L	"
카드뮴과 그 화합물	혈액	수시	카드뮴	AAS	5	µg/L	"

(근로자건강진단실무지침, 2020)

**<표 6> 금속류 생물학적 노출평가 2차 항목의 노출기준값 및
검사방법 : 유해물질 9 종의 생물학적 노출 평가 12 항목**

유해 물질명	시료채취		지표 물질명	권장분석법	노출기준		비고
	종류	시기					
납 및 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	
니켈 및 그 화합물, 니켈 카르보닐	소변	주말	니켈	AAS	80	µg/L	정도관리항목
사알킬납	소변	수시	납	AAS	150	µg/L	
	혈액	수시	ZPP	hematoflurometer	100	µg/dL	
	소변	수시	δ-ALA	HPLC-UV	5	mg/L	
삼산화비소	소변	주말	비소	AAS	총비소 150µg/L (초과시 종분류 : 무기비소+메틸화 대사물질 35µg/L)		"
	혈액	주말	비소	AAS			
수은 및 그 화합물	혈액	주말	수은	AAS	15	µg/L	
안티몬 및 그 화합물	소변		안티몬				
오산화바나듐 (분진, 흡)	소변	주말	바나듐	AAS	50	µg/g crea	
카드뮴 및 그 화합물	소변	수시	카드뮴	AAS	5	µg/g crea	정도관리항목
크롬 및 그 화합물	소변	주말	크롬	AAS	30	µg/g crea	"
	혈액		크롬				

(근로자건강진단실무지침, 2020)

<표 7> 금속류 생물학적 노출평가 권장 항목의 노출기준값 및 검사방법

유해 물질명	시료채취		지표물질명	권장분석법	노출기준		비고
	종류	시기					
망간 및 그 무기화합물	혈액	당일	망간	AAS	36	µg/L	정도관리항목

(근로자건강진단실무지침, 2020)

**<표 8> 가스 상태 물질류 생물학적 노출평가 항목의 노출기준값 및
검사방법: 유해물질 3 종의 생물학적 노출 평가 4 항목**

구분	유해 물질명	시료채취		지표 물질명	권장분석법	노출기준		비고
		종류	시기					
1차	일산화탄소	혈액	당일	카복시헤모글로빈	혈액가스분석	3.5	%	
		호기		일산화탄소	일산화탄소측정기	40	ppm	
2차	브롬	혈액		브롬이온				정도관리항목
	삼수소화비소	소변	주말	비소	AAS	총비소 150μg/L (초과시 중분류 : 무기비소+메틸화 대사물질 35μg/L)		

(근로자건강진단실무지침, 2020)

**<표 9> 허가 대상 유해물질 생물학적 노출평가 권장 항목의 노출기준값
및 검사방법: 유해물질 3 종의 생물학적 노출 평가 3 항목**

유해 물질명	시료채취		지표 물질명	권장 분석법*	노출기준		비고
	종류	시기					
비소 및 그 무기화합물	소변	주말	비소	AAS	총비소 150µg/L (초과시 중분류 : 무기비소+메틸화 대사물질 35µg/L)		정도관리항목
콜타르피치 휘발물 (코크스 제조 또는 취급업무)	소변	주말	1-하이드록시파이렌	HPLC-UVD	4.6	µg/L	
황화니켈류	소변	주말	니켈	AAS	80	µg/L	

(근로자건강진단실무지침, 2020)

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).

개발한 표준물질은 실험실간 비교를 통한 외부정도관리 및 실험실의 일상적인 분석 시 내부정도관리를 위해 사용되는 것을 목적으로 하였다. 본 연구에서 개발한 표준물질은 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 1,2-디클로로프로판 표준시료를 자체 개발하고자 하였다. 1,2-디클로로프로판을 첨가한 표준시료를 조제하고, 이 시료가 정도관리에 사용하기에 적합한 안정성과 균질성을 가지고 있음을 증명하는 것이 본 연구의 목적이다. 개발한 소변 중 1,2-디클로로프로판 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

이 연구에서는 우리나라 근로자건강진단 실무지침에 제시된 생물학적 노출 지표검사 항목이면서 아직 표준물질이 개발되지 않은 항목에 대한 표준물질을 개발하고자 하였으며, 전년도 연구 결과에 표준시료 개발 장기계획을 제시하였다. 그러나 소변 중 1,2-디클로로프로판이 근로자건강진단 실무지침에 2021년부터 1차 항목으로 적용되며 아직 분석방법이나 국내 정도관리를 위한 표준물질이 개발되어 있지 않아 기존 계획을 변경하여 소변 중 1,2-디클로로프로판을 표준시료 개발 항목으로 선정하였다.

<표 10> 표준시료 개발 장기 계획

연도	항목	근거
2021	소변 중 1-하이드록시파이렌	2013-2014 특검통계 실적 34건
	혈청 중 인듐	2021년 1차 항목 신설
2022	소변 중 TTCA	이황화탄소 생물학적 노출지표
2023	혈액 중 수은	" 8건
2024	소변 중 S-페닐머캅토산	벤젠 선택적 노출지표
2025	소변 중 바나듐	생물학적 노출검사 2차 항목
2026	소변 중 유기용제	유기용제 선택적 노출지표
2027	혈액 중 유기용제	"

2. 표준 시료 조제

소변 중 포함되어 있을 수 있는 방해 물질에 의한 영향을 차단하기 위하여 인공소변을 사용하여 표준시료를 조제하였다.

소변 중 1,2-디클로로프로판의 농도는 노동부 고시 근로자건강진단 실무지침을 참조하여 소변 중 1,2-디클로로프로판의 생물학적 노출지표 노출기준값인 180 $\mu\text{g/L}$ 수준의 0.5, 1, 2배 범위로 계획하여 첨가량을 결정하였다. 1,2-디클로로프로판 표준시약 9.5 mg을 25 mL 용량플라스크에 취하고 인공소변으로 표선을 채워 380 mg/L 용액을 조제하였다. 380 mg/L 용액 414 μL 를 인공 소변 875 mL에 가하여 190 $\mu\text{g/L}$ 용액을 조제하였다. 190 $\mu\text{g/L}$ 용액 375 mL와 인공 소변 375 mL를 혼합하여 900 $\mu\text{g/L}$ 용액 750 mL를 조제하였다. 이 용액 250 mL와 인공 소변 250 mL를 혼합하여 45 $\mu\text{g/L}$ 용액 500 mL를 조제하였다.

조제한 시료를 냉동 보관을 위해 Simport사(캐나다)의 sterile 5 mL cryovial에 4.5mL, 상온과 냉장보관을 위해 8 mL 유리바이알에 7 mL씩 소분하여 균질성과 안정성 확인에 사용하였다.

3. 실험 방법

1) 시약 및 장비

1,2-디클로로프로판, 플루오로벤젠(내부표준물질), 염화나트륨은 Sigma-Aldrich사(미국) 제품을 구매하여 사용하였다. 인공소변은 Biozoa 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 1,2-디클로로프로판 분석에는 Perkin-Elmer사(미국)의 TurboMatrix 40 headspace sampler, Clarus 690 gas chromatograph, Clarus SQ 8T mass spectrometer를 사용하였다. 분석용 컬럼은 Agilent Technologies사(미국)의

DB-1701 컬럼(30 m, 0.25 mm 내경, 0.25 μm 막 두께)을 사용하였다. 시료 주입용 헤드스페이스 바이알은 Perkin-Elmer사(미국)의 20 mL clear crimp vial을 사용하였다.

2) 시약 조제

- (1) 1,2-디클로로프로판 표준시약 10 mg을 10 mL 용량플라스크에 취하고 탈이온수로 표선을 채워 1,000 mg/L 표준용액 원액을 조제하였다. 표준용액 원액을 200 μL 취하여 20 mL 용량플라스크에 넣고 인공소변으로 희석하여 10 mg/L 용액을 조제하였다. 10 mg/L 용액 0.1, 0.2, 0.5, 0.8 mL를 20 mL 용량플라스크에 넣고 인공소변으로 표선을 채워 50, 100, 250, 400 $\mu\text{g/L}$ 의 검량선 작성용 표준용액을 조제하였다. 인공소변을 공시료(blank)로 사용하였다.
- (2) 내부표준시약인 플루오로벤젠 10 mg을 25 mL 용량플라스크에 넣고 인공소변으로 표선을 채워 400 mg/L 용액을 만들고, 이 용액 1 mL를 50 mL 용량플라스크에 넣고 인공소변으로 표선을 취하여 8 mg/L 용액을 만들었다.

3) 시료 및 표준용액 전처리

- (1) 시료는 거품이 발생하지 않도록 3분간 롤러 믹서에서 혼합하였다.
- (2) 20 mL 헤드스페이스 바이알에 염화나트륨 약 1g, 표준용액 또는 시료 2 mL, 내부표준용액 150 μL 를 넣고 마개를 닫은 후 바이알 아랫부분을 가볍게 흔들어 분석용 검액을 준비하였다.

<표 11> 헤드스페이스 가스크로마토그래프-질량분석검출기 분석 조건 예시

	헤드스페이스 자동시료주입기
오븐 온도	60 °C
가열 시간	20분
채취관	170 °C
연결관	180 °C
주입 시간	가압 1분, 배출 0.1분, 주입 0.05분
	가스크로마토그래프
이동상	고순도 헬륨(99.999%)
컬럼	Elite-1701(30 m, 0.25 mm 내경, 0.25 µm 막두께)
온도	주입부 230 °C
	컬럼 40 °C-(20 °C/분)-100 °C-(40 °C/분)-200 °C(1분), 총 6.5분
주입비	10:1
	질량분석검출기
이온발생전압	70 eV
이온발생원 온도	200 °C
검출이온(m/e)	2.0-2.15분: 96(플루오로벤젠, 내부표준물질) 2.17-2.43분: 63, 112(1,2-디클로로프로판)

4) 농도 계산

검량선용 표준용액의 농도를 가로(x)축으로 하고, 1,2-디클로로프로판 피크 면적을 내부표준물질 피크 면적으로 나눈 값을 세로(y)축으로 하여 검량선을 작성하고, $y=ax+b$ 의 회귀방정식을 통해 소변 중 1,2-디클로로프로판의 농도($\mu\text{g/L}$)를 구하였다.

5) 분석 방법 신뢰도 확인

(1) 직선성

1,2-디클로로프로판 50 - 400 $\mu\text{g/L}$ 범위에서 검량선을 작성하고 1,2-디클로로프로판의 농도와 피크면적의 상관계수로부터 검량선의 직선성을 확인하였다.

(2) 검출한계

AIHA(1988)에서 제시한 바에 근거하여 검량선 작성 자료를 이용한 통계적 방법으로 1,2-디클로로프로판의 농도와 검출값의 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 1,2-디클로로프로판을 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.

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 조건 당 3개 시료를 취하여 분석하고 95% 신뢰수준에서 안정성을 평가하였다.

3) 외부 실험실 분석결과 비교

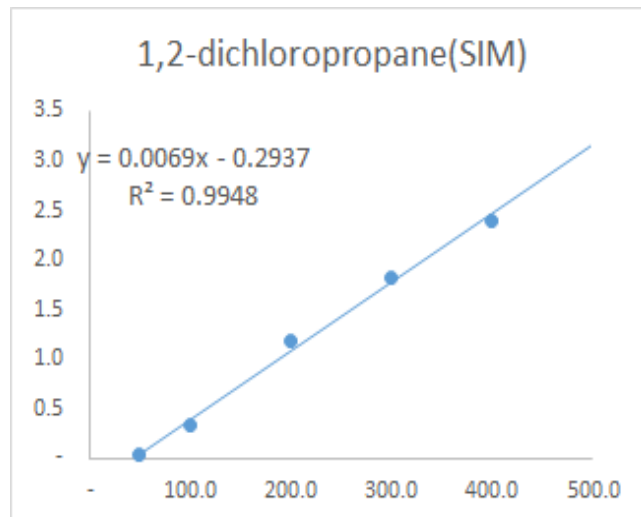
조제한 시료의 실험실간 분석값 비교를 위하여 헤드스페이스 가스크로마토그래프-질량분석기를 활용하고 있는 외부실험실에 시료 분석을 의뢰하였다.

Ⅲ. 연구결과

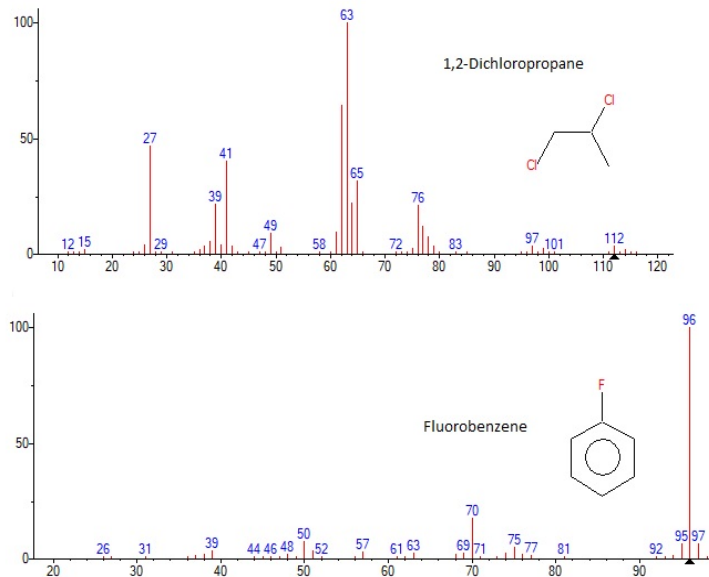
1. 분석방법 신뢰도

1) 직선성

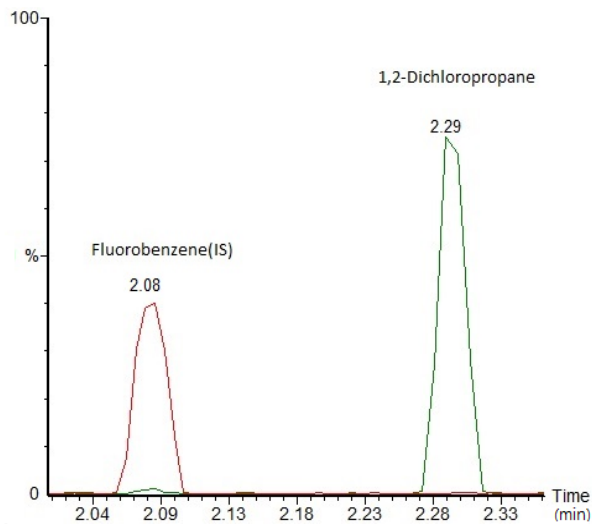
소변 중 1,2-디클로로프로판 50 - 400 $\mu\text{g/L}$ 농도 범위에 대해 SIM 모드로 분석하여 작성한 검량선은 상관계수 0.997 이상의 직선성을 나타내어(그림 1), 이 농도 범위 안에서 소변 중 1,2-디클로로프로판의 정량분석을 실시하였다. 1,2-디클로로프로판 피크 면적을 내부표준물질 피크 면적으로 보정한 검량선의 상관계수 0.997은 보정하지 않은 결과의 상관계수 0.987보다 상관성이 높고, 주입이나 분석 조건의 영향을 줄이므로 내부표준물질 보정 결과를 분석에 사용하였다.



[그림 1] 1,2-디클로로프로판 검량선 예시(내부표준물질 보정)



[그림 2] 1,2-디클로로프로판, 플루오로벤젠 질량스펙트럼



[그림 3] 1,2-디클로로프로판, 플루오로벤젠 크로마토그램
 (2.08분 피크: 플루오로벤젠(m/e 96) 500 μ g/L,
 2.29분 피크: 1,2-디클로로프로판 (m/e 63) 350 μ g/L)

SIM 방식과 동시에 수행한 스캔 방식(m/e 15-150) 분석 결과의 검량선은 상관계수 0.996으로 SIM 모드와 유사한 직선성을 보였으나, 스캔 방식에서 얻은 분석값의 평균 정밀도가 변이계수 12.2%로 SIM 모드의 5.8%보다 낮아, SIM 방식으로 분석을 수행하였다.

2) 검출한계

검량선 작성 자료를 이용한 통계적 방법으로 산출한 분석방법의 검출한계는 19 $\mu\text{g/L}$ (S/N비 3)으로, 노출기준이 180 $\mu\text{g/L}$ 인 1,2-디클로로프로판 시료 분석이 가능함을 확인하였다.

3) 정밀도

소변 중 1,2-디클로로프로판 3개 농도 시료를 각각 3 회 분석하여 구한 정밀도는 평균 5.8%였다.

4) 정확도

소변 중 1,2-디클로로프로판 첨가 용액을 분석하여 구한 평균 회수율은 92%였다.

2. 표준시료 신뢰도

1) 균질성 평가

각 항목에 대해 농도별로 10개의 시료에 대한 2회 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 12>의 결과로부터, 제조한 3종의 시료는 모두 균질하다고 평가하였다.

<표 12> 1,2-디클로로프로판 첨가 시료 균질성 검토결과

시료	분석값 평균($\mu\text{g/L}$)	F 값
농도 1	51	1.229
농도 2	108	1.697
농도 3	209	1.713

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. 저온 보관용 바이알에 담아 영하 20도와 영하 80도에서 보관한 표준시료 안정성이 가장 양호하였으며, 그 다음으로 유리 바이알에 시료를 90% 이상 담아 냉장 보관한 시료 안정성이 양호하였다.

3) 외부실험실 분석 결과 비교

헤드스페이스 가스크로마토그래프-질량분석기를 활용하고 있는 외부 실험실에 시료 분석을 의뢰하여 연구원 분석 결과를 포함한 분석 결과를 평균하여 표준시료의 기준값을 설정하였다. 2개 시료의 평균값은 각각 51, 98, 201 $\mu\text{g/L}$ 였고, 시료의 평균변이계수는 7%였다.

<표 13> 1,2-디클로로프로판 첨가 시료 안정성 검토 결과

보관조건	농도 1		농도 2		농도 3	
	RT±URT		RT±URT		RT±URT	
-80°C, 조제 당일	0.968	1.025	0.935	1.070	0.954	1.046
-80°C, 7일 경과	0.930	1.065	0.897	1.103	0.954	1.046
-80°C, 30일 경과	0.910	1.039	0.924	1.058	0.876	1.002
-20°C, 조제 당일	0.968	1.025	0.935	1.070	0.954	1.046
-20°C, 7일 경과	0.936	0.995	0.845	0.975	0.921	1.015
-20°C, 30일 경과	0.873	0.963	0.852	1.052	0.839	0.938
4°C, 조제 당일	0.968	1.025	0.935	1.070	0.954	1.046
4°C, 7일 경과	0.946	1.066	0.931	1.064	0.966	1.062
4°C, 30일 경과	0.958	1.037	0.897	1.103	0.935	1.036
RT, 조제 당일	0.968	1.025	0.935	1.070	0.954	1.046
RT, 7일 경과	0.932	0.973	0.895	1.040	0.876	1.002
RT, 30일 경과	0.874	0.944	0.845	0.975	0.874	0.959

<표 14> 소변 중 1,2-디클로로프로판 실험실간 분석결과 비교

(단위 : µg/L)

실험실	농도 1		농도 2		농도 3	
기관1	51		108		209	
기관2	51		87		192	
평균	51		98		201	
변이계수(%)	0		15.2		6.0	

IV. 고찰 및 결론

1,2-디클로로프로판은 기계, 금속 산업 등의 세척, 탈지 공정에 사용하는 유기용제로, 국제암연구기구(IARC)에서 1급 발암물질로 지정한 간담도계 독성 물질이다. 1,2-디클로로프로판은 트리클로로에틸렌의 대체물질로 세척 작업에서 사용이 증가하고 있으며, 1,2-디클로로프로판 만성 노출에 의해 담관암 등 유해한 건강 영향이 발생할 수 있어, 직업성 암 예방을 위해 노동부는 2021년부터 1,2-디클로로프로판 노출 근로자에 대한 작업환경 측정과 특수건강진단을 실시하도록 하였다. 이는 정경숙 등(2017)이 제시한 근로자 건강보호 방안을 근거로 하였으며, 연구진은 1,2-디클로로프로판의 작업환경 측정과 생물학적 노출평가 연구를 수행하였다. 1,2-디클로로프로판 노출 근로자 29명으로부터 작업 종료 후에 채취한 소변을 분석한 결과, 1,2-디클로로프로판의 기하평균이 232 $\mu\text{g/L}$ 였으며, 공기 중 1,2-디클로로프로판 농도와의 검량선으로부터 산출한 생물학적 노출기준은 181 $\mu\text{g/L}$ 였다. 이 결과를 근거로 하여 1,2-디클로로프로판 1,2-디클로로프로판의 작업환경 노출기준은 TWA 10 ppm에 대한 생물학적 노출기준을 소변 중 1,2-디클로로프로판 180 $\mu\text{g/L}$ 로 규정하였다.

1,2-디클로로프로판은 수용액 중에서 분해되지 않고 안정하게 존재하여, 수용액 중의 1,2-디클로프로판 반감기는 175-1400일로 알려져 있다(WHO, 2003) 그러나 수용액 중 저농도 유기용제가 용기를 투과하여 소실되므로 시료 채취 용기나 보관 조건에 따른 안정성 변화는 피할 수 없다. 안정성 검토 결과, 냉동 시료와 유리용기에 90% 이상 시료를 채워 냉장 보관한 시료가 안정하였다.

Kawai 등(2015)은 헤드스페이스 시료 주입 방법을 이용한 소변 중 1,2-디클로로프로판 분석 방법이 1,2-디클로로프로판 노출 평가에 유용함을 주장하였으나, 건강진단 분석기관에서 헤드스페이스 시료 주입장치를 보유하여 활용하고 있는 경우가 드물어, 국내에서는 적용이 어려웠다. 그러나 2020년부터 톨루엔의

생물학적 노출지표가 변경되어 소변 중 마노산 대신 o-크레졸 분석 과정을 간편하게 단축시킬 필요성이 생겨, 헤드스페이스 주입 장치를 도입하는 기관이 증가하였다. 현재 자체 기관에서 생물학적 노출지표 분석을 수행하는 국내 특수건강진단기관 80개 기관 중 15개 기관이 헤드스페이스 주입장치를 이용하여 소변 중 o-크레졸을 비롯한 생물학적 노출지표 분석을 수행하고 있어, 2021년부터 수행해야 하는 1,2-디클로로프로판 노출 평가가 국내에서 가능하게 되었다.

Kawai 등(2015)은 불꽃이온화검출기를 사용하여 소변 중 1,2-디클로로프로판 분석이 가능하였다고 제안하였으나, 1,2-디클로로프로판의 노출기준인 $180 \mu\text{g/L}$ 수준의 적은 농도를 선택적으로 분석하기 위해서는 질량분석검출기가 분석에 필요하다. 이 연구에서는 플루오로벤젠을 내부표준물질로 사용하여 양호한 분석 결과를 얻었으나, 플루오로벤젠 이외에도 1,2-디클로로프로판과 유사한 거동을 하는 할로젠 탄화수소 화합물이나 동위원소 치환 물질 중 근로자가 노출될 가능성이 적은 화학물질을 분석 기관에서 선택해서 사용할 수 있다. 또한, 질량분석검출기는 동시에 다른 물질을 검출할 수 있으므로 이 연구에서 사용한 컬럼 외에 다른 컬럼도 분석에 응용할 수 있다.

헤드스페이스 가스크로마토그래프-질량분석검출기를 이용한 소변 중 1,2-디클로로프로판의 분석 방법은 2021년 특수건강진단기관 정도관리와 특수건강진단 생물학적 노출평가에 활용할 예정이다.

참고문헌

- 양정선. 복합유기용제 및 중금속 폭로 근로자의 생물학적 모니터링에 관한 연구: 생물학적 모니터링에 관한 분석의 정도관리 프로그램. 산업보건연구원 연구자료 센터 95-4-21, 한국산업안전공단; 1995.
- 정경숙 등. 1,2-디클로로프로판(1,2-dichloropropane) 등 세척제 취급 실태조사 및 건강모니터링 체계 구축. 산업안전보건연구원, 2017-연구원-1058; 2017
- 근로자건강진단실무지침. 한국산업안전보건공단;2020
- 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.
- Chung-Soo P et al. Validation of urinary 1,2-dichloropropane concentration as a biological exposure index for workers exposed to 1,2-dichloropropane. 2020.
- 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/>
- IAEA;2004. <http://www-naweb.iaea.org/nahu/nmrm/default.shtm>

IARC. 1,2-dichloropropane. 2018.

<https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/06/mono110-03.pdf>

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.

Kawai T, Mitsuyoshi K, Ikeda M. Promising biological monitoring for occupational 1,2-Dichloropropane exposure by urinalysis for unmetabolized solvent. J Occup Health. 57(2):197-9; 2015

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.

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.

PCI:Interlaboratory comparison program for metals in biological matrices;2018. <https://www.inspq.qc.ca/en/ctq/eqas/pci/description>

Lehtinen S. Biological monitoring of chemical exposure in the workplace. WHO. p.205-217; 1996.

WHO. 1,2-dichloropropane(1,2-DCP) in drinking-water. 2003.
https://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/1,2-Dichloropropane.pdf

ABSTRACT

Title:

Development of biological reference material for proficiency test program
- Urinary 1,2-dichloropropane as bio-marker of 1,2-dichloropropane exposure

Objectives:

This study is to develop reference material of urinary 1,2-dichloropropane to enhance analytical ability of laboratories in industrial health by applying this material for proficiency test on analysis of markers of exposure to 1,2-dichloropropane.

Methods:

Urine samples of 3 concentration levels of 1,2-dichloropropane were prepared. Stability test for 30 days at 4 different temperatures and homogeneity test were performed for these samples. Analytical method was headspace gas chromatography-mass selective detection.

Results:

Prepared samples showed homogeneity at confidence level of 95%, and they showed good recovery of 1,2-dichloropropane after 30 days at room temperature.

Conclusion:

The homogeneity of reference material of urinary 1,2-dichloropropane

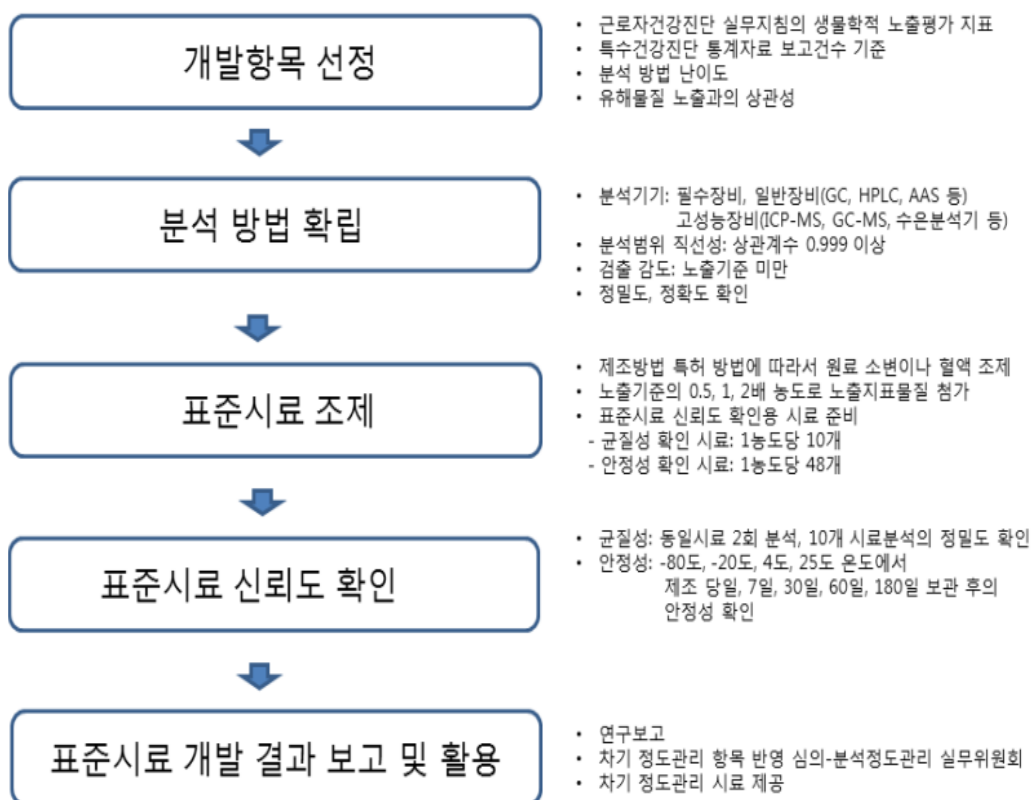
were confirmed. These samples will be utilized as reference samples for Korean quality assurance program for proficiency test of analytical ability of laboratories working in industrial health.

Key word :

urinary 1,2-dichloropropane, 1,2-dichloropropane exposure, stability, homogeneity, proficiency test, reference material

부 록

1. 정도관리 표준시료 개발 과정



[그림 4] 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 반복분석 했을 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

$$100 \times \frac{U_{hom}}{\text{overall mean}}$$

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	$\sum_i \sum_j (x_{ij} - \bar{x})^2$	$hn-1$	-	-

3. 안정성 평가(BAM,2004)

표준시료를 제조 직후 N_{ref} 번 반복분석 했을 때의 평균값을 C_{refm} , 표준편차를 S_{ref} 라 하고; $T^\circ\text{C}$ 에서 보관한 표준물질을 N_T 번 반복분석 했을 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_T 의 표준편차 S_{R_T} 는

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

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

〈〈연 구 진〉〉

연구기관 : 산업안전보건연구원

연구책임자 : 이 미 영 (연구위원, 약학박사, 직업건강연구실)

〈〈연 구 기 간〉〉

2020. 01. 01 ~ 2020. 11. 30

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

산업안전보건연구원장

생물학적 노출평가 표준시료 개발(5)

: 소변 중 1,2-디클로로프로판

(2020-산업안전보건연구원-818)

발 행 일 : 2020년 11월 30일

발 행 인 : 산업안전보건연구원 원장 고재철

연구책임자 : 산업안전보건연구원 이미영

발 행 처 : 안전보건공단 산업안전보건연구원

주 소 : (44429) 울산광역시 중구 중가로 400

전 화 : (052) 703 - 0855

F A X : (052) 703 - 0335

Homepage : <http://oshri.kosha.or.kr>
