

Rat를 이용 산소 및 유해가스 노출에 따른 운동성 변화와 치사농도 연구

김현영*, 이성배, 한정희, 강민구, 예병진¹

산업안전보건연구원 화학물질안전보건센터,
¹동아대학교 의료원 산업의학과

Effects on Physiological Activities Caused by Oxygen Deficiency and Exposure to Noxious Gases in SD Rats

Hyeon-Yeong Kim*, Sung-Bae Lee, Jeong-Hee Han,
Min-Gu Kang and Byeong-Jin Ye¹

*Chemical Safety & Health Research Center, Occupational Safety &
Health Research Institute, 104-8 Munji-dong, Yuseong-gu, Daejeon, Korea*
¹*Occupational & Environment Medicine, Medical Center, Dong-A University,
37 Dongdaesin-dong, Seo-gu, Busan, Korea*

ABSTRACT

As an effort to prevent serious accidents involving oxygen deficiency and suffocation in confined spaces and to identify the causes of such accidents, the present study investigated relevant accidents and systems in Korea and other countries. This study also conducted a number of experiments at lethal concentration levels of oxygen deficiency using SD rats and observed the changes of experimental animals with humidity, organic gas (toluene), hydrogen sulfide, carbon monoxide and so on at the oxygen deficient environment. The results of the study are as follows.

1. The results from the experiment conducted using SD rats at lethal concentration levels of oxygen showed that there were no casualties at the 7% oxygen concentration level, but the mortality increase to 20% at 6% oxygen, it was jumped to 90% at 5% oxygen, and it was also dramatically reached 100% at 4% oxygen concentration. Therefore, 5.5% was calculated as the LC₅₀ (rat, 4hr) from these dose-response experiments with oxygen deficiency.
2. When we changed the level of toluene, H₂S, CO, humidity, and so on, in an oxygen deficient environment, it was observed that the small concentrations of H₂S and CO make the highest effect on animals. In case of 350 ppm H₂S, it resulted in 30% mortality, and the 100% mortality was shown in 1,200 ppm CO concentration. The mortality increased as an oxygen deficient condition. However in the case of toluene up to 1,000 ppm, it were

* To whom correspondence should be addressed.
Tel: +82-42-869-0341, Fax: +82-42-863-9001
E-mail: kk3843@yahoo.co.kr

not affected with oxygen deficiency, and it did not indicate any significant differences in mortality as 20%, 90% humidities.

Key words : lethal concentration of oxygen, oxygen deficiency, LC₅₀

서 론

산업현장에는 다양한 유해 화학물질의 취급 등으로 매년 많은 산업재해가 발생하며 이들 중 맨홀, 오·폐수 처리장 등 환기가 부족하거나 밀폐 공간 작업장에서 산소결핍으로 인한 급성중독의 사고사례도 매년 20여 명의 중대사고(2007년도 19건 발생, 31명 사망, 7명 부상)가 지속적으로 발생되고 있다(한국산업안전공단, 2007). 특히 맨홀, 오·폐수 처리장, 저장탱크, 선박내부 작업 등에서 재해의 50% 이상이 하절기(6월~9월)에 집중적으로 발생하여(한국산업안전공단, 2008) 정부에서는 이에 대한 원인규명 및 산소결핍에 의한 동종재해 예방을 위해 “지하맨홀 작업 사전신고제 도입” 등 산소결핍 사망재해 예방에 대한 다양한 대책을 강구하고 있다(노동부, 2007).

산업안전보건법에서 산소결핍이라 함은 공기 중의 산소농도가 18% 미만으로, 적정한 공기는 산소 18% 이상, 23.5% 미만, 탄산가스 1.5% 미만, 황화수소 10 ppm 미만 수준의 공기로 규정하고 있으며, 또한 밀폐공간이라 함은 산소결핍, 유해가스로 인한 화재·폭발 등의 위험이 있는 장소로 물이 통하지 않는 지층에 접하거나 통하는 우물, 맨홀, 저장탱크, 산소농도가 18% 미만 또는 23.5% 이상, 탄산가스농도가 1.5% 이상, 황화수소 10 ppm 이상의 장소 등으로 규정하고 있다(노동부, 2009).

산소결핍 사고의 다발 원인은 다른 중독사고를 일으키는 다른 가스에 비해 산소는 무색, 무취의 가스로 사람의 호흡이나 감각으로는 산소결핍 상황을 판단할 수 없기에 대부분 위험 상황을 인지 못하여 중대 사고로 이어지기도 한다. 즉, 유독성가스 취급 장소에 비해 냄새가 없어 위험성이 감지되지 않아 무의식적으로 접근하는 경향이 높고, 산소결핍의 상황이 생명에 치명적 영향을 준다는 안전지식 부족으로 재해가 더욱 가중되는 경향이 있다.

따라서 본 연구에서는 이러한 산소결핍 사망재해의 예방을 위해 각국의 관리 제도와 최근 국내

외에서 발생한 다양한 사고 사례들을 조사하고, 실험동물을 이용 산소농도에 따른 운동성의 변화와 치사농도 규명, 그리고 산소결핍 상황에서 톨루엔, H₂S, CO가스 등 유해물질의 노출 또는 다습환경 등 각종 환경적 요인이 산소결핍 치사농도에 미치는 영향을 연구하여 동종 재해의 예방과 사고 발생시 원인규명의 자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

1) 시험물질

실험동물과 흡입챔버를 이용 시험물질의 농도별 치사농도(% 또는 ppm) 시험을 위해 온, 습도 조절 장치를 통해 정화된 청정공기와 질소가스(N₂, 99.98%), 그리고 가스발생장치(SIBATA Co., Japan)를 이용한 톨루엔 증기의 발생, 각 시험 농도별 표준 봄베가스의 황화수소(H₂S)와 일산화탄소(CO)를 사용하였으며, 습도 조절은 초음파가습기(오성사, H-557)를 이용하였다. 그리고 흡입챔버 내 산소농도 조절은 질소가스와 청정공기 공급장치(ICS-20GR, SIBATA Co., Japan)를 이용 일정비율로 조절하여 시험목표 농도로 실험동물에 전신노출 하였다.

2) 실험동물 및 사육환경

본 연구에 사용된 실험동물은 흡입챔버(SIBATA Co., Japan)내 개별케이지에 수용 및 취급이 용이하고 임상소건의 기초 자료가 풍부하여 일반 독성 시험에서 많이 사용되는 특정병원체 부재(specific pathogen free, SPF) 동물 SD rat를 사용하였다. 실험동물은 오리엔트바이오(주)에서 생산된 수컷 동물로 9주령의 rat(체중 380~450 g)를 구입하여 검역 및 1주일간 순화 후 건강한 동물을 시험 군별 체중 편차가 최소화 되도록 군 분리하여 5연식 스테인레스 철망케이지에 각 시험 군별 10마리로 하여 시험물질을 노출시켰다. 사육환경은 노동부고시 제 2008-11호(노동부, 2008)의 “산업화학물질 유해·

위험성 시험 등에 관한기준”에 따라 온도 21~24 °C, 상대습도 40~60%, 조명 150~300 Lux로 12시간 점등 및 소등하였고, 사료는 실험동물용 멸균사료 LabDiet 5002 (PMI Nutrition, USA)를, 식수는 상수도수를 삼투압정수 및 자외선 멸균 처리한 음용수를 자유롭게 섭취토록 하였다. 단, 시험물질 노출 중에는 사료를 공급하지 않았다.

2. 실험방법

시험물질의 노출시간 및 임상관찰 등 실험방법은 노동부고시 제2008-11호(노동부, 2008)의 “산업화학물질 유해·위험성 시험 등에 관한기준”의 급성 흡입독성시험법 및 OECD guideline for Testing of chemicals: 403 Acute Inhalation Toxicity (1981)에 따라 시험물질 노출시간은 4시간(단, 4시간 노출 전 전량 사망경우 사망시간까지), 그리고 생존동물에 대해서는 청정사육 환경에서 48시간 임상관찰기간을 가지며 사망 동물의 유무와 임상관찰 하였다.

각 시험 군별 노출농도의 설정은 참고문헌 조사와 2~3마리의 실험동물을 이용 예비 노출시험을 통해 치사농도 범위를 예측하고 이를 통하여 시험 농도를 설정하였으며, 고농도군은 100% 치사가 예상되는 최저농도, 저농도군은 치사되지 않은 최고 예상농도로 설정하였다.

또한 산소결핍 상황에서 다른 유해가스의 혼합 노출시 치사율의 상승작용 여부 등 치사농도에 미치는 영향 연구를 위해 산소결핍만으로 사망(20% 수준)을 유발할 수 있는 산소의 농도에서 각 시험 물질을 추가적으로 혼합 노출시켜 각 시험물질이 산소결핍 치사농도에 미치는 상승작용의 유무를 평가하였으며 세부적 실험방법은 다음과 같다.

1) 산소농도 변화에 따른 실험동물의 치사농도 시험

수컷 SD rat 40마리를 실험동물로 사용하여 흡입 챔버 (SIBATA Co., Japan) 4대를 이용 실험동물 10마리를 한 군으로 조성한 뒤 각각의 산소농도별 치사율을 구하기 위하여 4종류의 실험 군을 구성하였다. 시험농도 설정은 관련 문헌조사와 예비시험을 통해 저농도군은 치사되지 않는 최고의 예상농도, 그리고 고농도군은 100% 치사되는 최저 예상농도를 그리고 중간농도는 이의 중간 값으로 하여 4, 5, 6, 7%로 설정하였으며 이를 토대로 HEPA filter 및

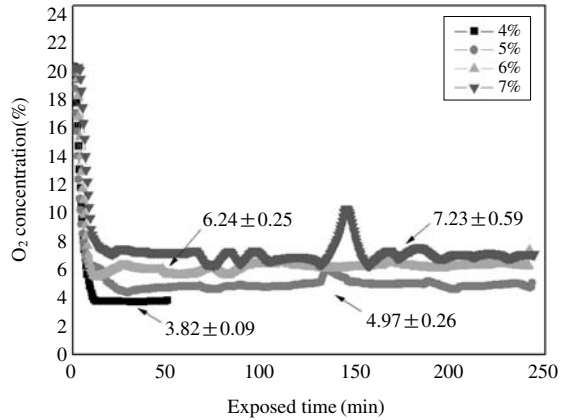


Fig. 1. Oxygen concentrations in each experimental chamber according to the exposure time.

Table 1. Oxygen concentrations in each experimental chamber

O ₂ Expo.	Max. (%)	Min. (%)	Mean ± S.D. (%)	Remark
4% group	4.38	3.77	3.82 ± 0.09	
5% group	6.07	4.45	4.97 ± 0.26	
6% group	6.70	5.55	6.24 ± 0.25	
7% group	10.41	6.39	7.23 ± 0.59	

은, 습도 조절장치를 통해 정화된 청정공기와 질소가스 (유량; 100~200 L/min)를 이용 공기와 질소가스를 100:200 또는 100:400 비율로 혼합하여 흡입 챔버 내에 공급하여 각 시험 군별 실험목표의 산소농도로 일정하게 조절하여 4시간 전신 노출시켰으며, 노출기간 중 산소농도 측정기 (Illinois instrument Co., USA)를 이용 3분에 1회씩 흡입챔버 내 산소농도를 모니터링 하고, 시간 경과별 실험동물의 운동성 변화를 측정하고 (activity monitoring system; SIBATA, Japan) 치사여부를 확인하였다. 또한 4시간 노출 종료 후 생존 동물에 대해서는 48시간의 관찰기간을 가지며 특이적 임상증상 및 사망 유·무를 확인하였다. 노출군 별 산소농도 측정 결과는 Fig. 1 및 Table 1과 같이 평균과 표준편차로 표시하였다.

2) 산소결핍 환경에서 유해가스 노출 및 습도변화 따른 치사농도 영향시험
산현현장에서는 환기부족으로 산소결핍에 의한

질식재해뿐만 아니라 산소결핍 상황에서 다양한 유해 가스와 복합적 환경에서의 재해사태가 많아 산소결핍 상황에서 각 중 유해가스의 노출이 사망농도에 미치는 영향을 관찰하기 위해 수컷 SD rat 130마리와 흡입챔버(SIBATA Co., Japan)를 이용 실험동물 10마리를 각 한 군으로 총 13군을 구성한 뒤 산소부족(6%) 상황에서의 톨루엔, 황화수소, 일산화탄소, 습도변화 노출시 치사율에 미치는 영향을 시험하였다. 시험군 구성은 일산화탄소 노출군은 4군으로, 톨루엔, 황화수소, 습도변화 시험군은 3군으로 구성하고 HEPA filter 및 온도, 습도 조절장치를 통해 정화된 청정공기와 질소가스를 이용 흡입챔버 내 산소결핍에 의한 질식재해가 유발할 수 있는 하한치의 산소농도(6%) 환경을 만든 후 톨루엔(증기형태), 시험농도별 붐배용 표준가스인 H₂S, CO를 각각 노출하며 실험동물의 운동성 변화와 치사농도, 치사시간을 관찰하였다. 또한 산소결핍(6%) 상황에서 습도에 의한 영향을 관찰하기 위해 초음파 가습기(오성사, H-557)를 이용 흡입챔버 내 습도(상대습도)를 20, 60, 90% 조건으로 하여 습도변화에 따른 영향도 관찰하였다.

3) 실험동물의 운동성 변화 및 치사시간 확인

상기 1)항과 2)항의 시험에 있어 시험물질 노출 시간에 따른 실험동물의 변화를 관찰하기 위하여 운동성 측정 장치를 이용 연속적으로 실험동물의 운동성 변화와 육안적 관찰을 통해 치사시간을 확인하였으며, 시험물질 노출 후(4시간) 생존동물에 대해서는 48시간 회복기간을 가지며 육안관찰과 심장박동 확인을 통한 생사의 유·무, 출혈, 호흡이상 등 일반증상에 대하여 관찰하였다.

각 시험 군별 노출농도 측정결과는 평균과 표준편차로 표시하고, 시험물질 노출에 따른 사망률은 시험대상물질수에 대한 사망동물수를 백분율(%)로 표기하였으며 산소농도 변화에 따른 치사동물의 양-반응(Dose-Response)관계는 Sigma-Step 프로그램을 이용하였다.

결 과

1. 산소농도 변화에 따른 실험동물의 운동성 변화 및 치사농도 시험결과

SD rat 수컷 10마리를 한 군으로 산소농도 변화

에 따른 시간별 운동성과 치사율 변화를 시험하였다. 시험결과 흡입챔버 내 산소농도는 시험개시 10분 이내(8~10분)에 시험 목표 농도에 도달하였으며, 각 산소농도별, 노출시간별 실험동물의 운동성 변화는 Fig. 2에서 5와 같았으며, 산소결핍 시험 개시 초기에는 실험동물의 호흡곤란으로 운동성이 크게 증가하였으나 20~30분 후부터는 운동성이 현격히 저하되었고, 사망동물의 경우 일부는 Fig. 6과 같이 고환의 부종현상도 관찰되었으며 시험농도별 운동성의 변화와 치사율은 다음과 같았다.

1) 산소 4%에서의 운동성 변화 및 치사율

공기 중 산소 4% 노출시험 결과 Fig. 2와 같이 노출개시 초기에는 실험동물의 호흡곤란으로 운동

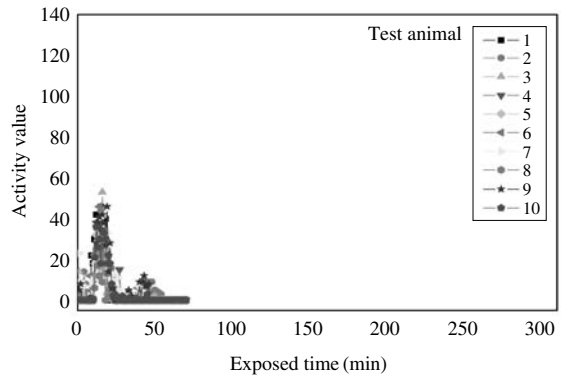


Fig. 2. Change of mobility of rats at the oxygen concentration of 4%.



Photo. 1. Testicular edema in male rats died from oxygen deficiency.

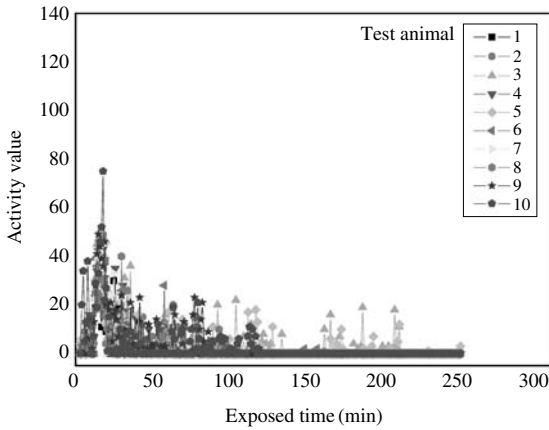


Fig. 3. Change of mobility of rats at the oxygen concentration of 5%.

성이 크게 증가하였으나 15분 경과 후 점차 운동성 둔화 또는 실신하였고 50분 경과시 모든 시험동물의 운동성이 정지되었다. 즉, 40분 후 10마리 중 5마리 사망, 45분 후 2마리 추가 사망, 47분 후 10마리 모두 사망하였다. 사망동물의 경우 구토나 출혈 등 특이적 증상은 없었으나 부검 결과 호흡기와 폐부분에 출혈이 있었으며, 또한 Photo. 1과 같이 일부 고환의 부종현상이 발생되었으며, rat의 치사율은 100%였다.

2) 산소 5%에서의 운동성 변화 및 치사율

공기 중 산소 5% 노출시험 결과 Fig. 3과 같이 노출개시 초기에는 운동성이 활발하였으나 20분 후 운동성 둔화 또는 실신하였으며, 40분 후 10마리 중 1마리 사망, 53분 후 1마리 추가사망, 70분 후 2마리 추가, 106분 후 추가 2마리, 120분 후 추가 1마리, 231분 후 추가 2마리 사망하였으며, 노출 4시간 동안 총 사망동물은 10마리 중 9마리였으며, 생존동물(1마리)은 24시간 후 운동성이 회복되었다. 따라서 산소 5%에서의 rat 치사율은 90%를 나타내었다.

3) 산소 6%에서의 운동성변화 및 치사율

공기 중 산소 6% 노출시험 결과 Fig. 4와 같이 15분 후 호흡 이상증상 및 움직임 둔화, 45분 경과 후 실신하였으며, 90분 경과시 가끔씩 재 움직임 또는 호흡속도가 빨라지는 상태를 유지하였으나 특이한 움직임 또는 이상소견은 없었다. 4시간 노출시

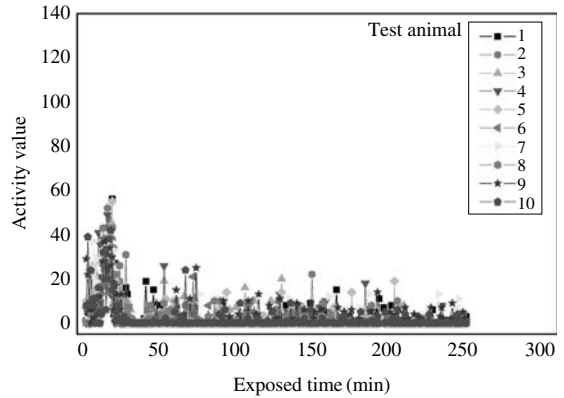


Fig. 4. Change of mobility of rats at the oxygen concentration of 6%.

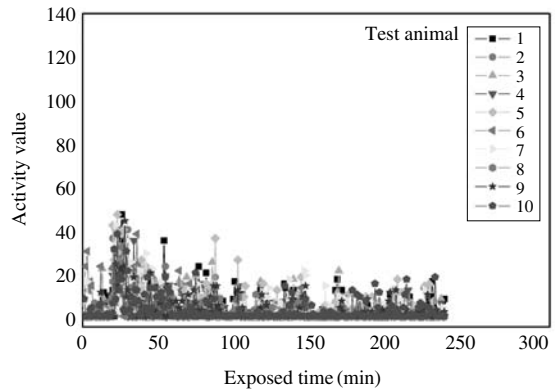


Fig. 5. Change of mobility of rats at the oxygen concentration of 7%.

10마리 중 2마리가 사망(20%)하였고, 생존동물(8마리)에 대해서는 48시간 임상관찰을 하였으나 특이적 임상소견이나 추가적 사망 예는 없었다.

또한 재현성 실험을 위해 동일한 조건에서 추가 시험결과 산소농도 6%에서 3시간 후 10마리 중 1마리 사망, 3시간 40분 후 추가 1마리 사망 등 4시간 노출시험에서 10마리 중 2마리 사망(20% 치사)하는 동일한 결과를 보여 산소 6%에서의 rat 치사율은 20%를 나타내었다.

4) 산소 7%에서의 운동성 변화 및 치사율

공기 중 산소 7% 노출시험 결과 Fig. 5와 같이 6% 시험에서와 같이 노출초기 실험동물의 운동성이 증가되었으나 20분 후 호흡 이상증상 및 움직

임의 둔화, 50분 경과시 일부 운동성 회복 또는 실신상태를 유지하였으며 4시간 노출기간 동안 사망동물은 없었으며, 또한 노출시험 후 48시간 회복기간을 거친 결과 운동성은 모두 회복되었다. 따라서 산소 7%에서의 rat 치사율은 0%를 나타내었다.

상기 실험결과를 토대로 산소농도 변화에 따른 SD rat의 치사농도 (Lethal Concentration, LC)는 Table 2와 같았으며, Sigma-stap 프로그램을 이용하여 양-반응(Dose-Response)의 상관관계는 photo. 1과 같이 산소의 과반수치사농도 LC₅₀(rat, 4 hr)은 5.5%로 산출되었다.

2. 산소결핍 환경에서 톨루엔 노출에 따른 치사율 변화

공기 중 산소 6.01±0.23% 환경에서 톨루엔 복합노출시 치사농도의 영향 변화를 확인하기 위해 rat 수컷 10마리를 한 군으로 3군을 조성한 뒤 톨루엔을 농도별로 각각 노출 시험한 결과 Table 3과 같이 톨루엔 100 ppm 노출군(102.1±4.1 ppm)의 경우 노출 3~4시간에 2마리 사망하였고(20% 치

Table 2. Number of dead animals and lethality according to different oxygen concentrations in each experimental chamber

O ₂ Expo.	O ₂ (%)	Test ani. No.	Death ani. No.	Death time	Death (%)
4% group	3.82±0.09	10	10	50 min	100%
5% group	4.97±0.26	10	9	230 min	90%
6% group	6.24±0.25	10	2	240 min	20%
7% group	7.23±0.59	10	0	240 min	0%

Table 3. Exposure concentration and number of dead animals in experimental chamber with toluene

Test group	Toluene (ppm)	O ₂ (%)	Test ani. No.	Death No.	Death (%)
100 ppm group	102.1±4.1	6.01±0.23	10	2	20%
500 ppm group	481.8±41.0	6.04±0.17	10	2	20%
1,000 ppm group	993.4±33.5	6.01±0.20	10	2	20%

Table 4. Exposure concentration and number of dead animals in experimental chamber with H₂S

Test group	H ₂ S (ppm)	O ₂ (%)	Test ani. No.	Death No.	Death (%)
20 ppm group	20.15±0.1	6.01±0.02	10	4	40%
350 ppm group	346.5±3.5	6.01±0.00	10	3	30%
500 ppm group	493.5±3.5	6.01±0.01	10	10	100%

사), 500 ppm군(481.8±41.0 ppm)의 경우 노출시간 3~4시간에 1마리, 노출 종료 후 회복 1시간 후 1마리 사망(20% 치사), 1,000 ppm군(993.4±33.5 ppm)의 경우 3~4시간에 2마리 사망(20% 치사)하였으며, 생존동물은 48시간 회복기간 중 특이적 증상이나 추가적 사망동물은 없었다.

또한 시험물질 노출시 실험동물의 운동성은 6% 산소결핍 시험에서와 같이 노출개시 초기에는 호흡곤란으로 운동성이 상승되었으나 시간이 경과(20분 정도)할수록 운동성이 저하되었으며, 100, 500, 1,000 ppm의 톨루엔 노출은 치사율의 상승작용 또는 치사에 직접적 영향을 미치지 않는 농도로 평가되었다.

3. 산소결핍 환경에서 H₂S 노출에 의한 치사율 변화

공기 중 산소 6.01±0.02% 환경에서 H₂S 노출에 따른 치사농도 영향을 관찰하기 위해 rat 수컷 10마리를 한 군으로 3군의 시험 군을 조성한 뒤 H₂S 표준가스를 이용 20, 350, 500 ppm을 노출시켜 치사율을 시험한 결과 사망동물 수는 Table 4와 같았다. 시험물질 노출기간 중 사망동물은 20 ppm군의 경우 10마리 중 노출개시 2시간 후부터 4시간까지 4마리 사망(40%), 350 ppm의 경우 노출시작 2시간 50분부터 4시간 노출 종료까지 3마리 사망(30%), 500 ppm의 경우 노출시작 1시간 40분부터 3시간 40분까지 10마리 중 10마리 모두 사망(100%)하였으며, 생존동물에 대해서는 48시간 회복기간을 가졌으나 추가적 사망동물은 없었다.

따라서 본 시험결과 산소결핍(6%) 상황에서 H₂S

Table 5. Exposure concentration and number of dead animals in experimental chamber with CO

Test group	CO (ppm)	O ₂ (%)	Test ani. No.	Death No.	Death (%)
300 ppm group	298.5±0.5	6.02±0.02	10	1	10%
600 ppm group	601.0±3.0	6.02±0.02	10	2	20%
1,200 ppm group	1,199±11	6.00±0.01	10	10	100%
2,400 ppm group	2,405±15	6.12±0.02	10	10	100%

Table 6. Exposure concentration and number of dead animals in experimental chamber with humidity

Test group	Humidity (%)	O ₂ (%)	Test ani. No.	Death No.	Death (%)
20% group	25.40±7.50	6.24±0.25	10	2	20%
60% group	59.22±10.14	6.14±0.28	10	2	20%
90% group	86.41±10.69	6.01±0.18	10	2	20%

Table 7. Casualties caused by oxygen deficiency in the last 5 years

Remark	Year	2007	2006	2005	2004	2003
Death	Death No.	31	20	22	16	21
	Accident No.	19	16	16	12	17
	(%)	Base year	△9.1	37.5	△23.8	90.9
Injured No.	Injured No.	7	7	3	4	1

20, 350, 500 ppm의 노출은 산소결핍 단일 상황보다 치사율을 상승시키는 효과의 농도로 나타났다.

4. 산소결핍 환경에서 CO 노출에 의한 치사율 변화

공기 중 산소 6.02±0.02% 환경에서 CO 노출에 따른 치사영향을 관찰하기 위해 rat 수컷 10마리를 한 군으로 4군의 시험 군을 구성한 뒤 CO 표준가스를 이용 300, 600, 1,200, 2,400 ppm을 노출시켜 치사율을 시험한 결과 사망동물 수는 Table 5와 같았다. 시험물질 노출기간 중 사망동물은 300 ppm군의 경우 10마리 중 노출개시 2시간 50분에 1마리 사망(10%), 600 ppm군의 경우 노출시작 후 3시간 16분경 1마리, 3시간 30분경 1마리, 총 2마리 사망(20%)하였고, 1,200 ppm군의 경우 노출시작 58분경 1마리 사망을 시작으로 1시간 45분까지 총 10마리 전량 사망(100%)하였으며, 2,400 ppm 경우 50분 이내 10마리 전량 사망(100%)하였으며, 생존동물에 대해 48시간 회복기간을 가졌으나 추가적 사망동물은 없었다.

따라서 본 시험결과 산소결핍(6%) 상황에서 CO

300~600 ppm 노출농도까지는 치사율이 상승되지 않는 농도로 나타났으나 1,200 ppm 이상의 경우 100% 사망하는 강한 상승작용의 농도로 나타났다.

5. 산소결핍 환경에서 습도변화에 따른 치사율 변화

공기 중 산소 6.24±0.25% 환경에서 습도의 변화에 따른 치사율 변화를 관찰하기 위해 rat 수컷 10마리를 한 군으로 3군을 조성한 뒤 산소결핍 환경에서 상대습도 20, 60, 90% 변화에 따른 치사율 변화를 시험한 결과 Table 6과 같이 상대습도 20%군(25.40±7.50%)의 경우 노출 2~3시간에 1마리, 3~4시간에 1마리 사망하였고(20% 치사), 60%군(59.22±10.14%)의 경우 노출시간 2~3시간에 2마리 사망(20% 치사), 90%군(86.41±10.69%)의 경우 2~3시간에 1마리, 3~4시간에 1마리 사망(20% 치사), 노출 종료 후 생존동물은 48시간 회복기간 중 특이적 증상이나 추가적 사망동물은 없었다.

따라서 산소부족(6%) 상황에서 상대습도 변화에 따른 치사율의 상승효과는 없는 것으로 나타났다.

고 찰

최근 산소결핍 관련 사망재해는 Table 7과 같이 매년 20여 명이 발생하고 있으며, 사고 장소로는 지하 매설 시설 보수, 맨홀작업, 건설현장 밀폐 공간 등 작업 시 산소결핍 및 질식사고 등으로 '99년부터 '07년간 발생한 재해의 경우 맨홀(28.3%), 오페수처리장(20%), 선박내부(12.8%) 순이었으며, 기인물은 산소결핍(41.4%), 각종 유해가스 질식(59%)이었으며, 유해가스로는 일산화탄소(36%), 황화수소(19%), 톨루엔 등 유기성 혼합가스(17%), 아르곤, 질소 등 치환가스(11%), 이산화탄소(3%), 아르곤이었으며, 업종별로는 건설업이 41.7%, 제조업이 23.3%, 위생, 서비스업이 12.2% 순이었으며, 계절별로는 6월에서 9월에 집중적(52%)으로 발생되었고, 또한 구조작업 중에 사망한 경우도 13.3%로 나타나고 있음이 보고(한국산업안전공단, 2008)되었다.

또한 외국의 사례를 보면 미국의 경우(U.S. Bureau of Labor Statistics, 2006) 2003년에 7건, 2004년에 9건 발생하였으나 2005년엔 발생되지 않았으며, 2006년에는 4건이 발생 점차 감소하는 경향을 보이고, 일본의 경우 최근 10년간 재해발생 건수는 109건으로 발생 원인은 질소, 이산화탄소 및 아르곤 가스 등 무산소기체로의 치환으로 인한 발생건수가 66건으로 가장 많았으며, 다음으로 유기물의 부패, 미생물의 호흡 등이 18건, 탱크 및 다른 소재의 산화 14건, 목재 등의 호흡작용 3건, 토양 내 제1철 염류의 산화 1건, 기타 7건의 순이었으며(Japan, <http://www.mhlw.go.jp>), 호주의 경우 산소결핍 관련 중대사고의 95%는 산소부족 또는 유해한 공기였으며, 밀폐 공간 출입 전에 작업환경에 대한 측정을 실시하지 않았으며, 발생의 60%는 다른 사람들을 구조하는 동안에 사망하였으며, 64%는 외주작업으로 이루어졌으며 희생자의 경우 사전에 안전교육을 받은 자는 3% 미만이었다는 보고(Australian Safety News, 1998)가 있다.

일반적으로 산소결핍이라 함은 공기 중의 산소농도가 18% 미만으로 통용되며, 밀폐공간이라 함은 산소결핍, 유해가스로 인한 화재·폭발 등의 위험이 있는 장소로 물이 통하지 않는 지층에 접하거나 통하는 우물, 맨홀, 저장탱크 산소농도가 18% 미만 또는 23.5% 이상, 탄산가스농도가 1.5% 이상, 황화

수소 10 ppm 이상의 장소를 칭한다(노동부, 2009). 외국의 경우 미국 산업안전보건청(OSHA, <http://www.osha.gov>)은 “산소결핍 대기란 부피로 19.5% 이하의 산소를 포함하는 대기”로 규정하고 있으며, 일본 노동안전위생법에는 “산소결핍이란 공기 중의 산소의 농도가 18% 미만인 상태”, 영국은 “밀폐공간이란 챔버, 탱크, 양조 및 염색용 큰 통, 사일로, 채석장, 파이프, 하수구, 굴뚝(연도), 우물이나 밀폐된 상태에서 확인한 위험이 발생할 수 있는 다른 유사한 공간을 의미한다.”로 규정(The confined Spaces Regulations, 1997)하고, 캐나다 산업안전보건법(Part XI of Canada occupational Health and Safety Regulations, SOR/86-304)에서는 “밀폐공간의 산소농도는 정상 기압에서 부피 기준으로 18.5% 이하나 23% 이상이 되지 않도록 하여야 한다.”로 규정하며, 호주는 “안전한 산소농도를 가지지 못하거나 산소 소비의 원인이 될 수 있는 곳”으로 규정하는 등 각 국가별로 일부 상이한 기준으로 관리되고 있다.

사람에 있어 산소의 결핍은 뇌의 활동성이 저하되고(Weissmann, 2006) 뇌손상과 호흡기의 이상으로 뇌혈관 확장과 부종, 뇌세포손상과 인지능력 저하가 동반되며, 산소가 없는 상황에서 2분이 경과되면 대뇌 피질세포의 괴사, 6~8분 후에는 전신으로 파급되어 사망에 이르게 되지만(Winek, 1995; Asi-

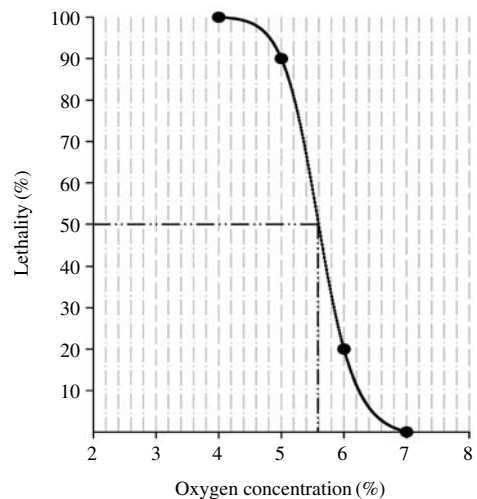


Fig. 6. Dose-response relationship of oxygen concentration and lethality in rats.

kainen, 2006; Easley, 2006) 무색, 무취의 환경으로 하여 위험한 상황이 쉽게 감지되지 않아 재해를 더욱 가중시키는 요인으로 작용되며 사고사례 조사 결과에서도 휘발성 유기용제 가스나 황화수소, 메르캡탄 가스 등 냄새가 나는 유독성가스에 의한 사망보다 질소 가스나 아르곤, 이산화탄소, 일산화탄소 등 무색, 무취의 가스들로 인한 사고 사례가 많았음이(한국산업안전공단, 2008) 이의 사실을 뒷받침 해준다.

본 연구에서는 산소농도에 따른 운동성 변화와 치사농도, 그리고 산소부족 상황에서 유해가스의 치사농도를 확인하기 위하여 SD rat를 이용 노동부고시 제2008-11호(노동부, 2008) 및 OECD guideline for Testing of chemicals (1981)의 급성흡입독성시험법을 준수하여 시험하였다. 결과 사망동물은 대부분 시험물질 노출시간 내에 발생되었으며 48시간 회복기간에는 추가사망동물이 발생되지 않아 회복기간의 차이성은 없는 것으로 나타났다. 또한 산소농도별 치사율은 Fig. 6과 같이 나타났으며 산소의 반수치사농도 LC₅₀은 5.5%로 나타났으며 Fig. 2에서와 같이 4%의 산소농도에서는 시험개시 초기에는 호흡곤란으로 운동성이 크게 증가하였으나 10분 이내 급격히 감소하였으며 50분 내에 전량 사망하였다. 산소 6%의 경우는 Fig. 4와 같이 시험개시 초기에 운동성이 증가하였고 시험개시 4시간에 2마리 사망하였으나 48시간 회복기간에 추가 사망 예는 없었으며, 7% 산소농도에서는 노출기간 및 회복기간에도 사망동물이 없어 산소부족에 의한 치사농도는 4~7%로 나타났다. Edward and Dorothy (1921)는 사람에 있어 100% 치사농도는 밝히지 않았지만 생존할 수 있는 최소 산소량은 약 7%이며 심지어는 5.2%에도 생존가능하다는 연구결과를 보고하였으며, 또한 산소결핍 관련 동물실험 연구에서 Morita (1998)의 연구에 의하면 N₂, CH₄, N₂O의 가스를 사용한 실험에서 흰쥐의 호흡 정지는 4%의 O₂와 80%의 가스 농도일 때 일어났으며, 개의 경우 사망농도는 O₂의 농도가 2.0~2.5%에서 전량 치사된 연구결과를 보여 산소의 사망농도는 8% 이하 수준(2.0~8%)임을 나타내고 있으며 본 연구에서도 치사농도는 4~7% 수준에서 일어나는 다른 연구자(Edward and Dorothy, 1921; Ikeda, 1990; Morita, 1998)와 유사한 결과를 보였다.

일반적으로 산소의 농도가 15~19.5%에서는 피

로, 작업능력 감소, 지구력 소실이 일어나며, 12~15%의 경우 맥박과 호흡을 증가, 행동의 부조화, 판단력이 약화되고, 10~12%에서는 맥박이 빨라지며 직무수행 불가, 판단력 저하, 입술이 파랗게 변하고, 8~10%의 경우 정신력 쇠약, 실신, 구토, 의식소실, 얼굴이 창백해지며, 산소 6~8%에서는 8분 경과 시 50~100%, 6분 경과 시 25~50% 사망할 수 있으며, 4~6%에서는 혼수상태, 행동 조절 불가, 경련으로 사망하는 보고와(NIOSH, 1987; NIOSH, 2006), 저산소증은 급성 음낭증 유발 및 고환의 부종 현상과 혈액 pH의 저하, 호흡수와 심박수 증가, 스트레스 관련 호르몬 증가, 뇌와 폐 및 고환의 조직학적 변화 등이 나타나는 것으로 보고되고 있으며(Surada, 1989; Julian, 2007; Rassler *et al.*, 2007), 본 연구에서도 실험동물의 경우 호흡과 심박수의 증가로 산소결핍 초기에는 운동성이 증가하였고 사망동물의 경우 일부에서는 photo. 1과 같이 고환에 부종현상이 발생되었다.

산업현장에서는 단순 산소결핍 환경에 의한 사망사고뿐만 아니라 각종 유해가스가 복합적으로 노출되는 다양한 환경조건에서 사망재해가 발생하므로 이의 상관관계를 확인하기 위해 저 산소 결핍 상황에서 유해가스 노출이 치사율에 미치는 영향을 평가하기 위하여 산소결핍으로 20% 정도 사망할 수 있는 저 산소 농도(6%)의 환경을 만든 후 톨루엔, H₂S, CO가스의 노출과 습도의 변화에 의한 치사율의 상승 유무를 시험하였다.

시험결과 톨루엔의 경우 6%의 산소 환경에서 톨루엔 100, 500, 1,000 ppm 노출시 6% 산소농도 시험에서의 20% 치사율과 동일하게 나타나 톨루엔 1,000 ppm 농도까지는 치사에 상승작용을 주지 못하는 결과를 보였으며, 이는 다른 연구자들의 연구에서도 Ikeda (1987, 1990)는 개(dog)를 톨루엔 2mL와 공기가 혼합된 플라스틱 함에 넣고 호흡 및 행동을 관찰한 결과 호흡운동은 실험시작 9~10분간 지속되었는데 그 후 호흡의 정지와 1~2분 후에 심장운동도 정지 되었으며 톨루엔 농도는 3% (30,000 ppm)이었다는 보고의 내용에 따라 톨루엔의 경우 30,000 ppm에서는 사망이 가능하나 1,000 ppm 이하에서는 급성작용에 의한 치사율의 상승작용이 없음을 의미하고 있어 유기용제 취급의 작업 환경에서 산소결핍 사망사고 발생의 경우 1,000 ppm 이하의 톨루엔 농도는 직접적 사망원인이 될

수 없음을 시사하며 일반적으로 mouse를 이용한 반수치사농도(LC₅₀)의 경우 5,000 ppm 이상으로 제시하고 있다(後藤 稯, 1994).

또한 일반적으로 H₂S 경우 0.03 ppm 이상에서 취기를 느낄 수 있으며 50 ppm 이상에서 결막자극증상, 그리고 150 ppm 이상에서 후각신경마비 등을 거쳐 1,000 ppm 이상에서 호흡중추마비로 사망하게 되며, 일산화탄소(CO)의 경우는 200 ppm 수준에서 두통을 느끼며, 800 ppm 이상에서 현기증과 경련을 일으키며 1,600 ppm 이상에서 1시간 내 사망하는 것으로 나타나 있으나(後藤 稯, 1994) 습도에 의한 생체의 영향이나 반응성은 평가되어 있지 않다.

본 실험결과 H₂S 경우 Table 4와 같이 20 ppm에서 산소 6% 단독 노출시(20% 치사)보다 상승률이 높아졌으며(40% 치사), 350 ppm의 경우는 30% 치사, 500 ppm의 경우는 100% 치사로 나타나 H₂S의 경우 산소 6% 환경에서 H₂S 20 ppm 이상의 경우 치사율에 상승작용을 나타내었다. 일산화탄소(CO)의 경우는 Table 5와 같이 1,200 ppm 이상의 농도에서 상승작용을 일으켰으며, 단, 300 ppm에서 치사율이 저 산소 단일 환경보다 치사율이 저하한 것은 독성작용이 낮아진 것이 아니라 생체실험에서는 자주 관찰되는 시험결과로 물리화학적 시험결과와 달리 생체반응에 있어서는 양-반응(Dose-Response)의 정확한 비례효과를 나타내지 않은 결과로 해석되었다. 그리고 습도의 경우는 습도 20, 60, 90% 변화에서도 6% 산소에서와 같이 치사율의 변화가 없어 습도의 높고 낮음에 따라 치사율에 큰 영향을 미치지 않는 결과로 해석되었다. 즉 산소결핍에 의한 사망 원인은 뇌의 손상과 호흡기의 이상으로 뇌혈관 확장과 부종, 뇌세포손상과 인지능력 저하가 동반되며, 이러한 현상이 지속될 경우 대뇌 피질세포의 괴사를 통해 전신으로 파급되어 사망에 이르게 된다. 또한 이러한 상황에서 마취 및 유해성이 강한 톨루엔이나 독성 및 자극성이 강한 황화수소(H₂S), 혈액 중 헤모글로빈과의 결합력이 강한 일산화탄소(CO) 등이 함께 노출될 경우 호흡의 활성성을 저해하여 산소 흡수량이 줄어들거나 산소 소모량을 증가시키며, 결국 혈액 등 체내 산소부족 현상을 가중시켜 산소결핍에 의한 단순질식보다 유해물질의 혼합에 의한 질식효과를 가중시키게 된다. 단, 그러나 본 연구에서 1,000 ppm의 톨루엔 농도는 급성독성 기전이 일으킬 수 있는 산소결핍의

상승작용 농도가 되지 못했으며, 습도의 경우도 산소결핍의 상승작용 효과는 관찰되지 않았다.

그리고 산소결핍에 의한 치사농도 실험에서 동물의 종간에 일부 차이성은 있으나 연구자들마다 다양한 동물을 사용하였으며, Rassler(2007)와 Toshifumi(1998), Morita(1998) 등은 SD rat를, Blackstone(2007)과 Robertshaw *et al.*(2006)은 mouse, Hill and Flack(1998)는 개와 고양이를 사용하였으며 실험결과 치사농도는 대개 4~8% (산소)의 결과를 나타내었고, 또한 9마리의 C57BL/6J mice를 이용한 동물실험에서 Blackstone는 9마리 모두 5% 산소농도에서 15분 이상 생존하지 못했다는 보고(Blackstone, 2007), 그리고 Edward and Dorothy(1921)는 사람에게 있어 100% 치사농도는 밝히지 않았지만 생존할 수 있는 최소 산소량은 약 7%이며 심지어는 5.2%에도 생존가능하다는 연구결과를 보고 등으로 볼 때 산소의 치사농도는 대부분 4~8% 수준으로 나타나 동물의 종간 차이성이 크지 않는 결과로 해석되었다.

따라서 본 연구에서 조사된 국내외 제도 및 사고 사례, 그리고 실험동물을 이용 산소농도의 변화에 따른 운동성의 변화와 치사농도, 저 산소 상황에서 각종 유해가스에 복합적으로 노출될 시 산소결핍의 상승작용으로 인하여 사망할 수 있는 치사농도를 예측하였으며, 이를 통하여 사고 발생시 원인 규명의 자료로 활용하고 산소결핍 관련 재해 예방을 위한 기술적 자료로 제공하고자 하였다.

결 론

산소결핍 또는 유해가스에 의한 사망사고 다발에 대한 예방대책의 일환으로 국내·외 재해발생 현황과 제도를 조사하고, 사고 발생시 원인규명의 자료 제공을 위해 실험동물(SD rat)을 이용 산소농도 변화에 따른 운동성과 치사율의 변화, 그리고 산소결핍 상황에서 톨루엔, 황화수소, 일산화탄소, 습도 등 각종 환경이 치사율에 미치는 영향을 실험하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. SD rat를 이용 산소의 치사농도를 시험한 결과 산소농도 7%에서는 사망예가 없었으나 6%에서는 치사율이 20%, 5%에서는 90%, 4%에서는 100%의 치사율을 보였으며, 이를 양-반응(Dose-

Response)에 의한 산소결핍 과반수치사농도 LC₅₀ (rat, 4hr)는 5.5%로 산출되었다.

2. 산소부족(6%) 상황에서 톨루엔, H₂S, CO가스, 습도 등 환경조건 변화에 따른 치사율 시험결과 H₂S와 CO는 낮은 농도에서도 생체의 민감도가 높았으며, H₂S의 경우 350 ppm에서 30% 치사, CO는 1,200 ppm에서 100% 치사되는 등 산소 6% 상황에서 치사율에 상승작용의 결과를 보였다. 그러나 톨루엔의 경우 1,000 ppm까지는 치사율에 있어 상승작용을 나타내지 않았으며 습도의 경우는 20% 또는 90%에서도 치사율에 상승효과를 나타내지 않았다.

참 고 문 헌

- 노동부. 사망재해 예방대책 추진계획, 2007.
- 노동부. 산업안전보건법, 2009.
- 노동부. 산업화학물질 유해·위험성 시험 등에 관한기준, 노동부 고시 제2008-11호, 2008.
- 한국산업안전공단 산업안전보건연구원. 재해조사보고서, 2007.
- 한국산업안전공단. 산소결핍원인 및 가스의 유해성, 2008.
- 한국산업안전공단. 지방자치단체 관급공사업체의 밀폐공간작업 보건관리 실태조사, 2008.
- 後藤 稠. 産業中毒便覽. 1994.
- Asikainen TM, Chang LY, Coalson JJ, Schneider BK, Waleh NS, Ikegami M, Shannon JM, Winter VT, Grubb P, Clyman RI, Yoder BA, Crapo JD and White CW. Improved lung growth and function through hypoxia-inducible factor in primate chronic lung disease of prematurity, *FASEB J* 2006; 10: 1698-1700.
- Blackstone E and Roth MB. Suspended animation-like state protects mice from lethal hypoxia, *SHOCK* 2007; 27(4): 370-372.
- Easley RB, Fuld MK, Fernandez-Bustamante A, Hoffman EA and Simon BA. Mechanism of hypoxemia in acute lung injury evaluated by multidetector-row CT, *Acad Radiol* 2006; 7: 916-921.
- Edward CS and Dorothy T. A study of low oxygen effects during rebreathing, *Am J Physiol* 1921; 55: 223-257.
- Hill L and Flack M. The effect of excess of carbon dioxide and of want of oxygen upon the respiration and the circulation, *J Physiol* 1998; 37(2): 77-111.
- Ikeda N, Mei D, Takahashi H and Suzuki T. The course of respiration and circulation in death due to oxygen deficiency, *Res Pract Forensic Med* 1989; 32: 135-139.
- Ikeda N, Takahashi H, Umetsu K and Suzuki T. The course of respiration and circulation in 'toluene-sniffing', *Forensic Sci Int* 1990; 44(2-3): 151-158.
- Japan Ministry of Health, Labour and Welfare. <http://www.mhlw.go.jp>.
- Julian RJ. The response of the heart and pulmonary arteries to hypoxia, pressure and volume. A short review, *Poultry Science* 2007; 86: 1006-1011.
- Morita. M and Watanabe T. Asphyxia due to oxygen deficiency by gaseous substances, *Forensic Science International* 1998; 96: 47-59.
- NIOSH. A Guide To Safety in Confined Spaces, 1987.
- NIOSH. Criteria for a Recommended Standard: Working in Confined Spaces, 1979.
- OECD. Guideline for Testing of chemicals: 403 Acute Inhalation Toxicity, 1981.
- OSHA. http://www.osha.gov/SLTC/etools/oilandgas/general_safety/h2s_monitoring.html.
- Rassler B, Marx G, Reissig C, Rohling MA, Tannapfel A, Wenger RH and Zimmer HG. Time course of hypoxia-induced lung injury in rats, *Respiratory Physiology & Neurobiology* 2007; 159: 45-54.
- Robertshaw D. Mechanisms for the control of respiratory evaporative heat loss in panting animals, *J Appl Physiol* 2006; 101(2): 664-668.
- Suruda A and Agnew J. Deaths from asphyxiation and poisoning at work in the United States 1984-6, *British Journal of Industrial Medicine* 1989; 46: 541-546.
- Suzuki T. Suffocation and related problems, *Forensic Science International* 1996; 80: 71-78.
- Toshifumi W and Masahiko M. Asphyxia due to oxygen deficiency by gaseous substances, *Forensic Science International* 1998; 96: 47-59.
- U.S. Bureau of Labor Statistics, Census of Fatal Occupational Injuries (CFOI)-Current and Revised Data, 2006.
- Weissmann N, Sommer N, Schermuly RT, Ghofrani HA, Seeger W and Grimminger F. Oxygen sensors in hypoxic pulmonary vasoconstriction, *Cardiovasc Res* 2006; 4: 620-629.
- Winek CL, Wahba WW and Rozin L. Accidental death by nitrous oxide inhalation, *Forensic Sci Int* 1995; 73(2): 139-141.