

KOSHA GUIDE

H - 209 - 2022

인덱스의 생물학적 노출지표 물질분석
기술지침

2022. 12

한국산업안전보건공단

안전보건기술지침 개요

- 작성자: 산업안전보건연구원 원용립
- 개정자: 산업안전보건연구원 원용립

- 제·개정경과
 - 2020년 8월 산업의학분야 제정위원회 심의(제정)
 - 2022년 12월 산업의학분야 제정위원회 심의(개정)

- 관련규격 및 자료
 - 원용립 등, 난용성 인디움 화합물에 의한 폐질환 예방 연구(Ⅱ), 산업안전보건연구원, 2013-연구원-973, 2013
 - 한국산업안전공단 산업안전보건연구원. 근로자 건강진단 실무지침. 2021
 - 원용립 등, 혈청 중 인듐 분석방법 검토 및 표준시료 개발, 산업안전보건연구원, 2021-산업안전보건연구원-741, 2021

- 관련 법규·규칙·고시 등
 - 산업안전보건법 제130조(특수건강진단 등)
 - 산업안전보건법 시행규칙 제206조 별표 24(특수건강진단·배치전건강진단·수시건강진단의 검사항목)
 - 산업안전보건법 제135조(특수건강진단기관)

- 기술지침의 적용 및 문의
 - 이 기술지침에 대한 의견 또는 문의는 한국산업안전보건공단 홈페이지 (www.kosha.or.kr)의 안전보건기술지침 소관분야별 문의처 안내를 참고하시기 바랍니다.
 - 같은 지침 내에서 인용된 관련규격 및 자료, 법규 등에 관하여 최근 개정본이 있을 경우에는 해당 개정본의 내용을 참고하시기 바랍니다.

공표일자: 2022년 12월 31일

제 정 자: 한국산업안전보건공단 이사장

인덱스의 생물학적 노출지표 물질분석 기술지침

1. 목 적

이 지침은 산업안전보건법(이하 “법”이라고 한다) 제130조(특수건강진단 등)와 같은 법 시행규칙(이하 “시행규칙”이라고 한다) 제206조 별표 24(특수건강진단·배치전건강진단·수시건강진단의 검사항목(제206조 관련)), 산업안전보건법 제135조(특수건강진단 기관) 4항에 따라 인덱스 노출 근로자의 생물학적 노출평가와 관련된 생물학적 노출지표물질 분석 방법 제시를 목적으로 한다.

2. 적용범위

이 지침은 법, 시행규칙, 그리고 고용노동부고시에 따라 실시하는 근로자 건강진단 중 인덱스 노출 근로자의 생물학적 노출평가에 적용한다.

3. 정 의

(1) 이 지침에서 사용하는 용어의 뜻은 다음과 같다.

(가) “생물학적 노출평가”란 혈액, 소변 등 생체시료 중 생물학적 노출지표물질 분석 값을 이용한 노출 유해물질 생체 흡수정도, 건강영향 가능성 등의 평가를 의미한다.

(나) “생물학적 노출지표물질”이란 생물학적 노출평가를 실시함에 있어 생체 흡수정도를 반영하는 물질로 유해물질 자체나 그 대사산물, 또는 생화학적 변화산물 등을 의미한다.

(다) “생물학적 노출 기준 값”이란 일주일에 40시간 작업하는 근로자가 고용노동부고시에서 제시하는 작업환경 노출기준에 노출될 때 혈액 및 소변 중에서 검출되는 생물학적 노출지표물질의 값을 의미한다.

(라) “정밀도(Precision)”란 일정한 물질에 대하여 반복측정·분석을 했을 때 나타나는 자료 분석치 변동의 크기를 의미한다. 이 경우 같은 조건에서 측정했을 때 일어나는 우연오차(Random error)에 의한 분산(Dispersion)의 정도를 측정값의 변이계수(Coefficient of variation)로 표시한다.

(마) “정확도(Accuracy)”란 분석치가 참값에 접근한 정도를 의미한다. 다만, 인증표준

물질이 있는 경우는 상대오차로 표시하고, 인증표준물질이 없는 경우는 시료에 첨가한 값으로부터 구한 평균회수율로 표시한다.

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

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

4. 분석개요

혈청 중 인듐을 분석하며, 분석 장비는 유도결합플라즈마 질량분석기(Inductively coupled plasma mass spectrometer)를 사용한다.

5. 분석방법

5.1 분석원리 및 시료채취

(1) 분석원리

인듐은 흡입 후 폐와 기관지 림프절에 쌓이며, 쥐를 이용한 연구에서 계산한 산화인듐의 반감기는 폐에서 2.5개월, 기관지 림프절에서 1.75개월로, 몸에서 느리게 배출된다. 혈청 중 인듐을 유도결합플라즈마 질량분석기로 분석한다.

(2) 시료채취

(가) 시료채취 시기

업무 종사 기간이라면 혈액 시료는 아무 때나 채취한다.

(나) 시료채취 요령

- ① 근로자의 정맥혈을 주사기로 채취하여 응고용 튜브에 옮기거나 응고촉진제가 처리된 진공채혈관을 이용하여 채취한다.
- ② 30분간 응고시킨 후 1,000 g(약 3,000 rpm)로 10분간 원심 분리하여 상층액을

분리한다.

- ③ 분리한 시료는 바로 4℃(2~8℃)에서 보관하고, 채취 후 5일 이내에 분석한다.

5.2 유도결합플라즈마 질량분석법

(1) 기구 및 시약

(가) 기구

- ① 자동피펫 100 - 1000 μ L, 2000 - 5000 μ L, 100 μ L
- ② 용량플라스크 1000 mL 1 개, 10 mL 5 개
- ③ 분취기(Dispenser) : 0.4 - 2.0 mL
- ④ 시험관(Dilution tube)
- ⑤ 혈액 혼합기

(나) 시약

- ① 인듐 표준용액
- ② 트리톤 X-100 (TRITON X-100)
- ③ 질산 : 특급시약(검사관련 중금속의 함량이 적은 것)
- ④ 탈이온수(저항 18 M Ω /cm 이상)
- ⑤ 로듐 표준용액(내부표준물)

(다) 주의 사항

- ① 사용하는 모든 초자기구는 20% 질산에 4 시간 이상 담가두었다가 탈이온수로 5 회 헹구어 사용한다.
- ② 탈이온수는 초순수 제조 장치로 제조한 비저항 18 M Ω 이상의 것을 사용하거나 원자흡광광도계용 탈이온수를 사용한다.
- ③ 트리톤 X-100, 1000 mg/L 인듐 표준용액과 질산은 특급시약을 사용하되 최초 개봉일로부터 3 년 이내의 것을 사용하도록 하며, 초과 시는 새로운 시약과 비교실험을 실시하여 오차가 10% 이내일 경우 1 년간 더 사용할 수 있다.
- ④ 산을 취급할 때는 보호안경, 장갑, 마스크를 착용 후 후드에서 작업한다.

(2) 시약 조제

(가) 희석액

- ① 희석액: 1000 mL 용량플라스크에 트리톤 X-100 1 mL, 질산 5 mL를 넣은 후

탈이온수로 표선을 채워 0.1% 트리톤 X-100, 0.5% 질산을 포함한 희석액을 만든다. 오토샘플러를 사용하는 경우 rinse solution은 희석액과 동일하게 조제한다.

(나) 표준용액

- ① 인듐 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 원액 100 μL 를 10 mL 용량플라스크에 옮기고 희석액으로 희석하여 10,000 $\mu\text{g}/\text{L}$ 표준용액을 만든다. 이 표준용액을 100 μL 취하여 10 mL 용량플라스크에 옮기고 희석액으로 희석하여 100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 용액을 만든다. 이 용액을 다시 1 mL 취하여 10 mL 용량플라스크에 옮기고 희석액으로 희석하여 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 용액을 만든다.
- ② 인듐 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 표준용액 원액을 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mL 취하여 10 mL 용량플라스크에 옮기고 희석액으로 희석하여 각각 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ 의 검량선용 표준용액을 만든다.

(다) 내부표준물

- ① 로듐 원액을 1 $\mu\text{g}/\text{L}$ 수준으로 희석하여 사용한다.

(3) 시료 및 표준용액 전처리

(가) 혈청은 혈액혼합기(Blood mixer)로 3 분 정도 잘 섞어준 후 취한다. 혈액혼합기가 없는 경우는 거품이 나지 않게 주의하면서 천천히 튜브를 거꾸로-바로 번갈아 세워가며 내용물이 섞이게 한다.

(나) 표준용액과 시료에 내부표준물을 넣고 희석액으로 50배 희석하여 분석용 검액을 만든다.

(4) 유도결합플라즈마 질량분석기 조건

(가) 사용하는 기기의 매뉴얼을 참고하여 최적 분석 조건을 선택한다<표 1>.

(나) 시간당 2도 이상의 온도변화는 결과에 영향을 줄 수 있으므로 항온장치 가동을 확인한다.

(다) 최소 10개의 시료마다 blank시료를 분석하여 오염에 의한 신호값의 상승을 방지한다.

<표 1> 혈청 중 인듐 분석을 위한 유도결합플라즈마 질량분석기 조건(예시)

항목	분석 조건
Nebulizer	Micromist nebulizer (400 $\mu\text{L}/\text{min}$)
Spray chamber	Double passed scott spray chamber
RF Generator	Frequency : 27.12 MHz Power output : 600 W - 1600 W
Ar Flow rate	Plasma gas: gas 18.0 $\mu\text{L}/\text{min}$ Auxiliary gas : 1.5 $\mu\text{L}/\text{min}$ Nebulizer gas : 1.00 $\mu\text{L}/\text{min}$
Sampler cone	Pt 1.0 mm
Skimmer cone	Pt 0.5 mm
Vacuum	Interface < 4 torr, Quadrupole < 3×10^{-6} torr
Data acquisition	Peak hopping, 10 ms scan time, 30 scan rate, 3 replicate
Analysis mass	In 115
Measurement mode	Quantification mode

(5) 농도 계산

검량선용 표준용액의 농도를 가로(x)축으로, 피크 면적을 세로(y)축으로 하여 검량선을 작성하고, $y=ax+b$ 의 회귀방정식에 분석 물질의 피크 면적을 대입하여 시료 중 포함된 인듐의 농도($\mu\text{g}/\text{L}$)를 구한다.

(6) 생물학적 노출기준

- 기준 값 : 1.2 $\mu\text{g}/\text{L}$

(7) 검출한계

(가) 검출한계

예) 혈청 중 인듐 0.0072 µg/L(S/N 비 3)

(나) 산출방법

검량선에 의한 표준용액의 농도와 면적간의 회귀식을 구하고, 이 회귀식의 표준오차와 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

지침 개정 이력

□ 개정일 : 2022. 12.

- 개정자 : 산업안전보건연구원 원용립
- 개정사유 : 시료 채취방법과 전처리 방법을 개선하여 분석 신뢰성을 높이기 위함.
- 주요 개정내용
 - 분석 시료를 전혈에서 혈청으로 변경
 - 내부 표준물로 로듐 추가
 - 희석액의 질산 농도를 0.1%에서 0.5%로 변경
 - 시료 및 표준용액의 희석배율을 20배에서 50배로 변경