

보건분야 - 연구자료
연구원 99-00-00
○-○○-○-00-00-00

유해물질 노출 근로자의 생물학적 모니터링을 위한 지표물질 분석법의 표준화 연구 (Ⅲ)

1999

한국산업안전공단
산업안전보건연구원

제 출 문

한국산업안전공단 이사장 귀하

본 연구를 1999년도 산업안전보건연구원의 연구사업중 “유해
물질 노출 근로자의 생물학적 모니터링을 위한 지표물질 분석
법의 표준화 연구 (Ⅲ)”에 대한 최종 결과 보고서로 제출합니
다.

1999년 12월 31일

제출자 : 산업안전보건연구원장 정 호 근

연구책임자 : 책임연구원 양 정 선

공동연구자 : 선임연구원 이 미 영

연구원 박 인 정

요 약 문

1. 과 제 명 : 유해물질 노출 근로자의 생물학적 모니터링을 위한 지표물질 분석법의 표준화에 관한 연구(III) (Development of Analytical Methods on Biological Determinants for Biological Monitoring(III))
2. 연구기간 : 1년(1999년 1월 - 1999년 12월)
3. 연 구 자 : 책임연구원 양 정선, 선임연구원 이 미영, 기술직 4급 박 인정
4. 연구목적 : 유해 화학물질별 생물학적지표물질을 선정하고, 해당 지표물질에 대하여 일정한 신뢰도를 갖는 자료를 생산할 수 있는 실험실적 표준분석법 (분석 매뉴얼)을 제공하기 위함. 한 지표물질에 대하여 여러 가지 분석방법이 있는 경우 검진기관의 형편에 따라 선택하여 사용할 수 있도록 다양한 분석법과 해당 분석법의 신뢰도를 알 수 있는 정도관리 자료를 제시함.

5. 연구내용 : 생물학적 모니터링 대상 유기용제, 중금속 관련 생체지표물질의 표준화 분석법 수립

- 유기용제, 중금속 관련 생체지표물질별 분석법에 관한 문헌 고찰
- 문헌분석에 따른 실험실적 시험법 검토, 개선
- 분석법 검증 - 정밀도, 정확도, 검출한계 검증 시험
- 표준분석법 제시

<표 1. 검토항목 - 요약>

	유해인자	분석항목	비고
1차년도	무기분야 5 유기분야 13	무기분야 11 유기분야 20	분석 이론, 분석법 각론
2차년도	무기분야 5 유기분야 6	무기분야 8 유기분야 7	분석법 각론
3차년도	무기분야 6 유기분야 5	무기분야 7 유기분야 5	분석법 각론
계	무기분야 10 유기분야 17	무기분야 26 유기분야 32	

<표 2. 분석항목 및 분석법 - 요약>

유해인자	시료	지표물질	분석법	'97	'98	'99
납	혈액	납	비불꽃 AAS법	o		
			불꽃 AAS법		o	
	소변	납	개요	o		
			비불꽃 AAS법		o	
			불꽃 AAS법		o	
	혈장	delta-ALA	HPLC	o		
	혈액	P-5-N	HPLC	o		
	모발	납	불꽃AAS법			o
카드뮴	혈액	카드뮴	비불꽃 AAS법	o		
	소변	카드뮴	개요	o		
		카드뮴	비불꽃 AAS법			o
		카드뮴	불꽃AAS법(추출법)			o
크롬	혈청	크롬	비불꽃 AAS법	o		
	소변	크롬	비불꽃 AAS법	o		
망간	혈액	망간	비불꽃 AAS법	o		
	소변	망간	비불꽃 AAS법	o		
수은	혈액	수은	개요	o		
		수은	환원증기 AAS법			o
	소변	수은	환원증기 AAS법		o	
니켈	소변	니켈	비불꽃 AAS법		o	
			불꽃 AAS법		o	
	혈액	니켈	비불꽃 AAS법			o
비소	소변	비소	환원증기AAS법		o	
코발트	소변	코발트	비불꽃 AAS법		o	
베릴륨	소변	베릴륨	환원증기AAS법			o
불소	소변	불소	이온선택전극법			o

유해인자	시료	지표물질	분석법	'97	'98	'99
톨루엔	혈액	톨루엔	헤드스페이스 GC	o		
	소변	마노산	HPLC법	o		
			UV법	o		
			GC법		o	
	소변	o-크레졸	GC법	o		
스티렌	혈액	스티렌	헤드스페이스 GC	o		
	소변	만델산,페닐글리옥실산	HPLC법	o		
			GC법		o	
크실렌	혈액	크실렌	헤드스페이스 GC	o		
	소변	메틸마노산	HPLC법	o		
			GC법		o	
벤젠	혈액	벤젠	헤드스페이스 GC			o
	소변	t,t-뮤콘산	HPLC법	o		
	소변	S-페닐머캅토산	GC/MS법		o	
	소변	페놀	GC법	o		
삼염화에틸렌	혈액	삼염화에탄올	헤드스페이스 GC	o		
	소변	삼염화초산,총삼염화물	헤드스페이스 GC	o		
	소변	삼염화초산,총삼염화물	GC(추출법)			o
	소변	총삼염화물	UV법		o	
	소변	삼염화초산	UV법		o	
메탄올	소변	메탄올	헤드스페이스 GC	o		
에탄올	소변	에탄올	헤드스페이스 GC	o		
이소프로판올	소변	이소프로판올	헤드스페이스 GC	o		
아세톤	소변	아세톤	헤드스페이스 GC	o		
메틸에틸케톤	소변	메틸에틸케톤	헤드스페이스 GC	o		
메틸이소부틸케톤	소변	메틸이소부틸케톤	헤드스페이스 GC	o		
노르말헥산	소변	2,5-헥산디온	GC법	o		
디메틸포름아미드	소변	NMF	GC법	o		
디메틸아세트아미드	소변	NMAC	GC법		o	
이황화탄소	소변	TTCA	HPLC			o
COE	소변	1-하이드록시피렌	HPLC			o
Cyanide	혈액	시아나화수소	헤드스페이스 GC			o

6. 활용계획 : '97, 98년도 연구결과물 중 일부는 이미 KISCO CODE로 제정되어 기술지침으로 보급됨. 생물학적 지표물질의 검사항목은 근로자건강진단실무지침의 개정에 반영됨. 근로자 건강진단 실무지침의 화학적 인자에 대한 생물학적 노출지표 검사 항목별 분석 매뉴얼은 인터넷의 공단 홈페이지를 통해 일선 검진기관의 해당 실무자들이 필요하면 다운 받을 수 있도록 함.

7. 연구개요 : (본문구성 예시)

유해 인자 : Toluene(예시)

지표 물질 : 요중 마뇨산(예시)

분 석 법 : 가스크로마토그래피법(예시)

가. 분석 원리

나. 시료 채취

다. 기구, 시약

라. 시약 조제

마. 시료 및 표준용액 전처리

바. 기기 조건

사. 정도관리

- 정밀도 : 재현성
- 정확도 : 회수율
- 검출한계

8. 중 심 어 : 생물학적 모니터링, 지표물질, 표준분석법, 정도관리

차 례

머리말(I)	I-1
머리말(II)	II-1
용어의 정의	II-4
분석장비 개요	II-7
I. 서론 - 생물학적 모니터링	I-3
1. 노출량 평가	
2. 영향, 감수성 평가	
3. 약물동력학적 요인	
4. 생물학적 모니터링 수행의 필요 요건	
II. 무기분석 이론 -원자흡수분광광도법	I-18
1. 원리 및 이론	
2. 기기	
3. 방해영향	
4. 응용	
III. 무기분석 각론	
1. 납	
1) 전혈중 납(비블꽃AAS법)	I-36
2) 소변중 납(개요)	I-38
3) 혈장중 delta-aminolevulinic acid (HPLC법)	I-40

4) 혈중 pyrimidine-5'-nucleotidase activity(HPLC법)	I-43
5) 전혈중 납(불꽃AAS법)	II-10
6) 소변중 납(비불꽃AAS법)	II-16
7) 소변중 납(불꽃AAS법)	II-23
8) 모발중 납(불꽃AAS법)	III-1
2. 카드뮴	
1) 전혈중 카드뮴(비불꽃AAS법)	I-47
2) 소변중 카드뮴(개요)	I-49
3) 소변중 카드뮴(추출법, 불꽃AAS법)	III-5
4) 소변중 카드뮴(비불꽃AAS법)	III-10
3. 크롬	
1) 혈청중 크롬(비불꽃AAS법)	I-53
2) 소변중 크롬(비불꽃AAS법)	I-55
4. 망간	
1) 전혈중 망간(비불꽃AAS법)	I-58
2) 소변중 망간(비불꽃AAS법)	I-60
5. 수은	
1) 소변중 수은(환원증기 AAS법)	II-28
2) 전혈중 수은(개요)	I-64
3) 전혈중 수은(환원증기 AAS법)	III-15
6. 니켈	
1) 소변중 니켈(비불꽃 AAS법)	II-35

2) 소변중 니켈(불꽃 AAS법)	II-41
3) 전혈중 니켈(비불꽃 AAS법)	III-21
7. 비소	
1) 소변중 비소(환원증기 AAS법)	II-46
8. 코발트	
1) 소변중 코발트(비불꽃 AAS법)	II-52
9. 베릴륨	
1) 소변중 베릴륨(비불꽃AAS법)	III-27
10. 불소	
1) 소변중 불소(이온선택전극법)	III-33
IV. 유기분석 이론 - 크로마토그래피	I-74
1. 기초원리 및 이론	
2. 기기	
3. 응용	
V. 유기분석(Organic Analysis) 각론	
1. 톨루엔	
1) 혈중톨루엔(헤드스페이스 GC법)	I-124
2) 요중마노산, 만델린산, 페닐글리옥실산, 메틸마노산 (HPLC법)	I-128

3) 요중마노산(톨루엔 단독노출인 경우에 한하여, UV법)	I-130
4) 요중o-크레졸(GC법)	I-132
5) 요중마노산, 만델린산, 메틸마노산등(GC법)	II-59
2. 스티렌	
1) 혈중스티렌(헤드스페이스 GC법)	I-135
2) 요중만델린산,페닐글리옥실산(HPLC법)	I-137
3) 요중마노산, 만델린산, 메틸마노산등(GC법)	II-59
3. 크실렌	
1) 혈중크실렌(헤드스페이스 GC법)	I-139
2) 요중메틸마노산(HPLC법)	I-142
3) 요중마노산, 만델린산, 메틸마노산등(GC법)	II-59
4. 벤젠	
1) 요중 t,t-muconic acid(HPLC법)	I-144
2) 요중페놀(GC법)	I-147
3) 요중 S-phenylmercapturic acid(HPLC법)	II-65
4) 혈중 벤젠(헤드스페이스 GC법)	III-37
5. 삼염화에틸렌	
1) 혈중삼염화에탄올(헤드스페이스 GC법)	I-149
2) 요중 삼염화초산, 총3염화물(헤드스페이스 GC법)	I-152
3) 요중 총삼염화물(UV법)	II-70
4) 요중 삼염화초산(UV법)	II-74
5) 요중 삼염화초산, 총3염화물(GC법)	III-42

6. 알콜,케톤류	
1) 요중메틸알코올, 에틸알코올, 이소프로필알코올, 아세톤, 메틸에틸케톤, 메틸이소부틸케톤(GC법)	I-155
7. 헥산	
1) 요중2,5-hexanedione(GC법)	I-158
8. 디메틸포름아미드	
1) 요중N-methylformamide(NMF)(GC법)	I-161
9. 디메틸아세트아마이드	
1) 요중 N-methylacetamide(NMAC) (GC법)	II-75
10. 삼염화에틸렌	
1) 혈액중 삼염화에탄올(헤드스페이스 GC법)	I-149
2) 소변중 삼염화초산, 삼염화에탄올(헤드스페이스 GC법)	I-152
3) 소변중 총 삼염화물 (UV법)	II-70
4) 소변중 삼염화초산 (UV법)	II-74
5) 소변중 삼염화초산, 삼염화에탄올(GC법)	III-42
11. 이황화탄소	
1) 소변중 TTCA(2-thioxothiazolidine-4-carboxylic acid) (HPLC법)	III-47
12. COE	
1)소변중 1-하이드록시피린(HPLC법)	III-52

13. Cyanide

1)혈중 시안화수소(헤드스페이스 GC법)	III-58
------------------------	--------

부 록

‘근로자 건강진단 실무지침’ 보완사항 중 생물학적 모니터링 관련 사항	III-62
---	--------

제 1 장 무 기 분 석

1. 납(Lead)

- 1) 전혈중 납(비불꽃AAS법) : I-36
- 2) 소변중 납(개요) : I-38
- 3) 혈장중 delta-aminolevulinic acid : I-40
- 4) 혈중 pyrimidine-5'-nucleotidase activity(HPLC법) : I-43
- 5) 전혈중 납(불꽃AAS법) : II-10
- 6) 소변중 납 (비불꽃AAS법) : II-16
- 7) 소변중 납(불꽃AAS법) : II-23
- 8) 모발 중 납

가. 분석원리

모발을 산으로 회화한 후 원자흡광광도계로 분석한다.

나. 시료 채취

목덜미 부근의 머리카락을 취하여 스테인레스 재질의 가위를 사용하여 5에서 10 mm의 길이로 자른다. 취할 머리카락의 양은 최소한 0.5 g 이상이어야 한다.

다. 기구, 시약

정밀천평

1회용 페트리 접시 (15 x 100mm)

100 ml 테플론 비이커

HNO₃

HClO₄

SDS (sodium lauryl sulfate)

원자흡광광도계

탈이온수

라. 시료 전처리

① 시료의 무게를 단 다음 페트리 접시에 넣고 1.0% w/v SDS 용액으로 이따금 흔들며 30분간 세척한다. 탈이온수로 6회 행구고 건조한다.

② 시료를 100ml 테플론 비이커에 옮기고 HNO₃ : HClO₄ = 5 : 1의 산 혼합액으로 회화시킨다. 투명한 용해액이 한두 방울 남으면 반응을 종결하고 탈이온수를 가하여 10ml로 만든다.

마. 표준용액 조제

① 시판하는 1000 ppm Pb 표준용액을 10 ml 취하여 1% 질산으로 50 ml로 희석하여 200 ppm 표준용액을 만든다.

② 200 ppm Pb 표준용액을 다음과 같이 1% 질산으로 희석하여 2, 4, 6, 8 mg/l Pb 표준용액을 만든다.

Pb 표준용액 번호	Pb 표준용액 농도 mg/l	조제법	
		Pb 200 ppm 표준용액	1% 질산
1	2	1 ml	표선 100 ml
2	4	2 ml	표선 100 ml
3	6	3 ml	표선 100 ml
4	8	4 ml	표선 100 ml

바. 기기 조건

Wavelength : 283.3nm

Slit width : 0.7 nm

Flame : air-acetylene

사. 참고문헌

- (1) AAS Analytical methods, Perkin Elmer Cor., 1996
- (2) E. DiPietro, D. Philips, D. Paschal, Determination of trace elements in human hair, Biol. Trace Element Res., 22, 83-100, 1989

(3) E. Esteban, C. Rubin, R. Jones, G. Noonan, Hair and blood as substrates for screening children for lead poisoning, Archives of Environmental Health, vol54, no6, 436-440, 1999

2. 카드뮴

1) 전혈중 카드뮴(비불꽃AAS법) : I-47

2) 소변중 카드뮴(개요) : I-49

3) 소변 중 카드뮴(추출법, 불꽃AAS법)

가. 분석원리

소변 중 카드뮴은 킬레이트 시약과 반응시켜 복합체를 만든 후 유기용제로 추출하여 원자흡광광도계로 분석한다.

나. 시료 채취

시료채취 시점은 아무 때나 무관하나 작업시작 전 작업복을 갈아입기 전에 채취하면 편리하다. 시료 채취 전 근로자는 반드시 손을 씻도록 해야 하며, 가능하면 작업복을 입지 않은 상태에서 채취한다. 처음 소변은 버리고 중간 소변부터 미리 산으로 세척한 용기에 시료를 취하며 시료 채취 직후 용기의 뚜껑을 닫는다. 시료는 냉장 보관 3주일, -20도 이하에서 냉동 보관 6개월 이상 안정하다.

다. 기구, 시약

흑연로가 부착된 원자흡광광도계

흑연튜브

카드뮴 분석용 속빈음극램프

시료혼합기

원심분리기 (3000g)

15ml 뚜껑있는 폴리에틸렌 재질의 혈청분리관

2ml 뚜껑있는 플라스틱 반응튜브

20-1000 μ l 범위의 자동피펫

1-5ml 범위의 피펫

10, 50, 100, 1000 ml 용량플라스크

1000ppm 카드뮴 표준용액

Hexamethylene ammonium / hexamethylene dithiocarbamate
(HMA/HMDC)

크실렌

디이소프로필 케톤

글루타치온(환원형)

초산(96%)

탈이온수

라. 시약 조제

- 글루타치온 용액 : 670 mg의 글루타치온을 1 l 용량플라스크에 넣고 탈이온수로 표선을 맞춘다. (2.2 mmol/l) 제조 후 2주간 안정.

- 추출용액 : 680 mg의 HMA/HMDA를 50ml 용량플라스크에 넣고 크실렌 15ml를 가한 뒤 따뜻한 수조에 넣어 용해시킨다. 용액을 식힌 뒤 50ml 디이소프로필케톤으로 표선을 맞춘다. 실험할 때마다 신선한 용액으로 제조하여야 한다.

마. 검량선 작성용 표준액 조제

- 희석용액 A : 1000ppm 카드뮴 표준용액 100 μl 를 취하여 100ml의 용량플라스크에 넣고 탈이온수로 표선을 맞춘다. (1 mg/ ℓ)
- 희석용액 B : 희석용액 A 1ml를 50ml 용량플라스크에 넣고 글루타치온 용액으로 표선을 맞춘다. (20 $\mu\text{g}/\ell$)
- 검량선 작성용 표준액 조제 : 희석용액 B를 아래 표와 같이 글루타치온 용액으로 희석하여 카드뮴 농도 2 $\mu\text{g}/\ell$ 에서 8 $\mu\text{g}/\ell$ 농도범위의 검량선 작성용 표준액을 만든다.

희석용액 B	글루타치온 용액	표준액 농도
ml	ml	$\mu\text{g}/\ell$
-	10	-
1	9	2
2	8	4
3	7	6
4	6	8

바. 시료 전처리

1ml의 소변에 4ml의 탈이온수와 2ml 추출용액을 가하고 5분 동안 세게 흔들어 추출한다. 3000 rpm에서 원심 분리하여 상정액을 취한다. 취한 상정액을 AAS 흡연로에 주입한다.

시약 공검액으로 보정해 준다.

사. 기기 조건

- 파장 : 228.8 nm
- 바탕 보정 : 지만 또는 중수소 램프
- 슬릿 나비 : 0.7nm
- 흑연로 조건
- 시료 주입량 : 25 μ l

	온도(°C)	시간(초)
건조	180	30
회화	350	30
원자화	2200	8
튜브세척	2700	2

아. 정도관리

- 정밀도 : 2.6 - 5.5 μ g/ℓ 농도범위에서 변이계수 8.1 - 9.5%
- 정확도 : 2.0 - 7.0 μ g/ℓ 농도범위에서 회수율 85-106%
- 검출한계 : 0.2 μ g/ℓ

자. 참고자료

(1) Working Group Analytical Chemistry, edited by J. Angerer and K.H. Schaller, Analyses of Hazardous substances in biological materials; Lead,

vol2, p195, VCH(Weinheim, Germany), 1988

(2) M Stoeppler, Analysis of cadmium in biological materials, In Cadmium association, London, Cadmium council, New York, 95-102, 1982

4) 소변 중 카드뮴(비불꽃AAS법)

가. 분석원리

소변을 계면활성제로 희석시킨 용액을 흑연로에 주입하여 원자흡광광도계로 분석한다.

나. 시료 채취

시료채취 시점은 아무 때나 무관하나 작업시작 전 작업복을 갈아입기 전에 채취하면 편리하다. 시료 채취 전 근로자는 반드시 손을 씻도록 해야하며, 가능하면 작업복을 입지 않은 상태에서 채취한다. 처음 소변은 버리고 중간 소변부터 미리 산으로 세척한 용기에 시료를 취하며 시료 채취 직후 용기의 뚜껑을 닫는다. 시료는 냉장보관 3주일, -20도 이하에서 냉동 보관 6개월 이상 안정하다.

다. 기구, 시약

용량 플라스크: 1000ml 2개, 10ml 3개

자동 피펫: 2000-5000 μ l, 1000 μ l-100 μ l, 1000 μ l, 100 μ l

혼합기

분주기(0.4 - 2.0 ml)

화학저울

초음파 세척기(Sonicator)

희석용 폴리스티렌 튜브 & 튜브꽂이

AAS 자동시료주입기용 폴리프로필렌 컵

원자흡광광도계(흑연로원자화 장치, Cd 분석용 램프, Zeeman 바탕보정장치)

흑연튜브

탈이온수

$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$

$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

Triton X-100

Cd 표준용액($1000 \text{ ppm} = 1000 \mu\text{g}/\text{ml} = 100000 \mu\text{g}/\text{dl}$)

질산

라. 시약조제

(1) 표준액 조제용 1% 질산

질산 1 ml를 탈이온수로 희석하여 100 ml로 한다.

(2) 시료 희석용 0.1% Triton-X 100 용액

Triton-X 100 1 ml를 탈이온수에 녹여 1 l로 한다.

(3) Matrix modifier 용액

$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 2.5g, $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.259 g, Triton-X 100 0.1 ml를 탈이온수에 녹여 100 ml로 한다.

마. 검량선 작성용 카드뮴 표준용액 조제

① 시판하는 1000 ppm Cd 표준용액을 0.1 ml 취하여 1% 질산으로 10 ml로 희석하여 10 ppm 표준용액을 만든다. 10 ppm 용액 0.1 ml를 1% 질산으로 10 ml로 희석하여 0.1 ppm 표준용액을 만든다.

② 0.1 ppm Cd 표준용액을 다음과 같이 1% 질산으로 희석하여 3, 9, 15 $\mu\text{g}/\ell$ Cd 표준용액을 만든다.

Cd 표준용액 번호	Cd 표준용액 농도 $\mu\text{g}/\ell$	조제법	
		Cd 0.1 ppm 표준용액	1% 질산
1	3	0.3 ml	표선 10 ml
2	9	0.9 ml	표선 10 ml
3	15	1.5 ml	표선 10 ml

바. 시료 전처리

* 해동한 시료는 혼합기로 3분정도 잘 섞어준 후 취한다.

(1) 검량선작성용 소변 처리 [표준물 첨가법]

시료번호	희석액 (ml)	소변 (ml)	Cd 표준용액		Cd 농도 ($\mu\text{g}/\ell$)
			(용액 번호)	(ml)	
addition 0	0.8	0.1	탈이온수	0.1	X + 0
addition 1	0.8	0.1	1	0.1	X + 3
addition 2	0.8	0.1	2	0.1	X + 9
addition 3	0.8	0.1	3	0.1	X + 15

(2) 시료 처리

Addition 0와 같다(희석액 0.8 ml + 탈이온수 0.1 ml + 시료 0.1 ml).

사. 기기조건

- 흑연로 조건

Step No.	Temp (℃)	Ramp time (sec)	Hold time (sec)	Gas flow (ml/min)	Read
1	110	1	30	250	
2	130	15	30	250	
3	500	10	20	250	
4	1500	0	5	0	v
5	2450	1	3	250	

- 기기조건

Element: Cd

Wavelength: 228.8 nm

Slit width: 0.7

Signal Type: AA-BG

Signal Measurement: Peak Area

Lamp current: 4mA

Calibration mode : Method of Additions Calibrate, system-prepared

Sample volume : 10 $\mu\ell$

Modifier volume : 2 $\mu\ell$

아. 정도관리

- 정밀도 : 2.0 - 15.0 $\mu\text{g}/\ell$ 농도범위에서 변이계수 9.2 - 15.3%
- 정확도 : 2.0 - 15.0 $\mu\text{g}/\ell$ 농도범위에서 회수율 80-115%
- 검출한계 : 0.6 - 0.8 $\mu\text{g}/\ell$

자. 참고자료

(1) V Lagesson and L Andrasko, Direct determination of lead and cadmium in blood and urine by flameless atomic absorption spectrophotometry, Clin Chem 25, 1948-1953, 1979

(2) M Stoepler and K Brandt, Contributions to automated trace analysis, V. Determination of cadmium in whole blood and urine by electrothermal atomic absorption spectrophotometry, Fresen Z Anal Chem, 300, 372-380, 1980

(3) M Stoepler, Analysis of cadmium in biological materials, In Cadmium association, London, Cadmium council, New York, 95-102, 1982

5. 수은

1) 소변중 수은(환원증기 AAS법) : II-35

2) 전혈중 수은(개요) : I-64

3) 전혈중 수은(환원증기 AAS법)

가. 분석원리

휘발성이 커서 불꽃법이나 에너지를 이용한 비불꽃법 등으로 중성원자를 만들기가 부적절한 경우, 적당한 시약을 가하여 화학적인 방법으로 중성원자를 만든 다음 공기를 용액에 불어넣어서 수은 원자증기를 광로로 보내 분석한다.

나. 시료의 채취

근로자의 정맥혈을 중금속이 포함되지 않은(metal-free) EDTA가 미리 처리된 튜브와 1회용 플라스틱 주사기를 이용하여 3, 4일 작업종료 후 채취한다. 4 °C의 아이스박스를 이용하여 실험실로 이송한다. 4 °C에서 3, 4일, 밀봉하여 -20 °C에서 보관하면 장기간 보관이 가능하다. 냉동 보관 후 해동하여 분석용 시료를 취하면 균질하고 대표성 있는 시료의 채취가 가능하다

다. 기구 및 시약

(1) 기구세척 및 시약 준비

사용하는 모든 초자기구는 20% 질산에 4시간 이상 담가두었다가 탈이온수로 7회 헹구어 사용한다. 탈이온수는 초순수제조장치로 제조한 비저항 18 MΩ의

것을 사용하거나 원자흡광광도계용 탈이온수를 구입하여 사용하며, 1000 ppm 수은 표준용액과 Sodium Borohydride (NaBH_4), 수산화나트륨, 질산, 염산, 황산 등은 특급시약을 사용한다.

(2) 기구

용량플라스크 : 1000ml 1개, 500ml 1개, 100ml 1개, 10ml 4개

Autopipet & tip : 100 μl , 100-1000 μl , 5000 μl

와류혼합기

전열기

바이알 또는 시험관 : 20ml 이상, 시료갯수 + 표준용액 갯수

(3) 시약

탈이온수

$\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$

HCl

NaBH_4

NaOH

H_2SO_4

HNO_3

Antifoaming agent

Hg 표준용액(1000ppm)

Perkin Elmer AAnalyst 800 - FIMS 400 with WinLab software

라. 시약 조제

(1) 3% HCl

1000ml 용량플라스크에 탈이온수 약 500ml의 탈이온수를 가하고 진한 염산 30ml를 가한 뒤 표선을 맞춘다.

(2) 0.2% NaBH₄ in 0.05% NaOH with antifoaming agent [실험당일 조제]

500ml 용량플라스크에 NaOH 0.25g, NaBH₄ 1g, antifoaming agent 0.5ml를 가한 뒤 탈이온수로 표선을 맞춘다.

마. 시료 전처리

① 20ml 정도의 바이알이나 시험관에 K₂S₂O₈ 0.2g, HNO₃ 4ml, H₂SO₄ 0.5ml를 취하여 잘 섞고 전혈 0.5ml를 가해 잘 섞는다.

② 95℃로 30분간 가열한다. 거품발생이 멈추고 반응혼합물 위에 산화질소류 흡이 나타나면 회화가 완결된 것으로 본다.

바. Hg 표준용액 조제 [실험당일 조제]

① Hg 1000ppm 원액 0.1ml를 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 1ppm 표준용액을 만든다.

② Hg 1ppm 표준용액을 탈이온수로 희석하여 Hg 10, 100, 200, 300 ppb 표준용액을 만든다.

표준용액 농도		조제법
ppb = $\mu\text{g}/\ell$	ppm 표준용액 (ml)	탈이온수
10	0.1	표선 10ml 되도록
100	1	표선 10ml 되도록
200	2	표선 10ml 되도록
300	3	표선 10ml 되도록

③ 시료와 똑같이 처리하여 측정용으로 한다 [$\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 0.2g, HNO_3 4ml, H_2SO_4 0.5ml + 표준액 0.5ml, 95°C 로 30분간 가열]

사. 기기조건

(1) Instrument

Wavelength : 253.7nm

Slit width : 0.7

Signal measurement : Peak Height

Sample loop : $500\mu\ell$

(2) Flow injection program

Step	Time (sec)	Pump1 speed	Pump2 speed	ValveRead
Prefill	15	100	120	Fill
1	17	100	120	Fill
2	15	0	120	Inject

(3) Agent flow rate

Acid channel : 3% HCl, 유속 9-11ml/min

Reductant channel : 0.2% NaBH₄ in 0.05% NaOH with antifoaming agent,
유속 acid * 1/2

아. 정도관리

(1) 정밀도(Precision)

3 - 98 µg/ℓ 농도 수준에서 상대표준편차 3.8 - 5.6 %임.

(2) 정확도(Accuracy)

8 µg/ℓ 농도 수준에서 평균 회수율 98%

(3) 검출한계

0.4 µg/ℓ

자. 참고자료

(1) Working Group Analytical Chemistry, edited by J. Angerer and K.H. Schaller, Analyses of Hazardous substances in biological materials; Lead, vol2, p195, VCH(Weinheim, Germany), 1988

(2) WHO/HPR/OCH, Biological monitoring of chemical exposure in the workplace; Inorganic mercury, p.132, 1996

(3) Flow Injection Mercury/Hydride Analysis Recommended Analytical Conditions and General Information, technical report, Perkin Elmer, 1998

(4) J Angerer et al., The pre-analytical phase of toxicological monitoring examinations in occupational medicine, Trends Anal Chem, 2, 257-261, 1983

(5) WR Hatch and WL Ott, Determination of sub-microgram quantities of mercury and methylmercury in undigested biological samples, Anal Chem, 40, 2085-2087, 1968

(6) L Magos, Selective atomic absorption determination of inorganic mercury and methylmercury in undigested biological samples, Analyst, 96, 847-853, 1971

(7) L Magos and TW Clarkson, Atomic absorption determination of total, inorganic and organic mercury in blood, J Assoc Off Anal Chem, 55, 966-971, 1972

(8) D.E. Nixon et.al., Inorganic, organic, and total mercury in blood and urine: cold vapor analysis with automated flow injection sample delivery, J. Anal. Tox. , 20, 17, 1996

6. 니켈

1) 소변중 니켈(비불꽃 AAS법) : II-35

2) 소변중 니켈(불꽃 AAS법) : II-41

3) 전혈중 니켈(비불꽃 AAS법)

가. 분석원리

전혈 중 니켈은 비불꽃 AAS법으로 분석한다. 전처리 방법은 혈액을 0.01% Triton X-100으로 희석한 다음 희석한 용액을 흑연로에 주입하여 분석한다.

나. 시료의 채취

혈액중 니켈은 최근의 니켈의 흡수량을 반영한다. 따라서 전혈을 당일 작업 종료 후 채취한다.

다. 기구 및 시약

(1) 기기 및 기구

흑연로가 부착된 원자흡광광도계

Ni hollow cathode lamp

흑연튜브

Blood mixer

Shaker

뚜껑있는 폴리에틸렌 튜브

용량플라스크 : 1000 ml, 500 ml, 100 ml, 20 ml

피펫 : 0.5, 1 ml

(2) 시약

탈이온수

질산

Ni 표준용액 (1000 ppm)

Triton X-100

n-octanol

라. 시약 조제

(1) 희석시약 조제

① 0.01% Triton X-100용액 : 100 ml 용량플라스크에 50ml의 탈이온수를 넣고 0.01ml의 Triton X-100을 가한다. 잘 섞은 다음 표선을 맞춘다.

② 0.01 M 질산용액 : 탈이온수 약 50ml를 100ml 용량플라스크에 취하고 0.43ml의 진한 질산(70%)을 가한 다음 표선을 맞춘다.

(2) Ni 표준용액 조제

① Ni 1000ppm 원액 1ml를 100ml 되도록 탈이온수로 희석하여 Ni 1000 µg/dl 표준용액을 만든다. 이것을 원용액(stock solution)으로 한다.

② Ni 1000 µg/dl 표준용액 1ml를 10ml 되도록 0.01M 질산 용액으로 희석

하여 Ni 100 µg/dl 표준용액을 만든다.

③ Ni 100 µg/dl 표준용액을 다음과 같이 0.01M 질산 용액으로 희석하여 Ni 1.0, 2.5, 5.0 µg/dl 표준용액을 만든다. 표준용액은 매회 실험 전에 새로 조제하여 사용하여야 한다.

Ni 표준용액 번호	Ni 표준용액 농도		조제법	
	ppb	µg/dl	Ni 100 µg/dl 용액(µl)	0.01M 질산용액
0	0	0	0.01M 질산용액	
1	10	1.0	100	표선 10ml 되도록
2	25	2.5	250	표선 10ml 되도록
3	50	5.0	500	표선 10ml 되도록

마. 시료 및 표준용액 전처리

(1) 검량선 작성용 혈액 처리[표준물 첨가법]

시료번호	0.01% TX-100 (µl)	n-octanol (µl)	혈액 (µl)	Ni 표준용액 (용액 번호)	혈액중 니켈 농도 (µg/dl)
addition 0	850	40	125	0	X + 0
addition 1	850	40	125	1	X + 1.0
addition 2	850	40	125	2	X + 2.5
addition 3	850	40	125	3	X + 5.0

X : 공시료 혈액에 이미 포함되어 있는 니켈의 양. 검량선의 x절편값.

(2) 시료혈액 처리
addition 0와 같다.

바. 기기조건

분석파장은 232.0 nm, 램프 전류는 5 mA, 슬릿 나비는 0.5 nm, 슬릿 높이는 보통(Normal)이며, 중수소(D2) 램프 또는 지만(Zeeman) 바탕보정을 한다. 자동 시료주입기 또는 수동으로 15 - 25 μl 의 시료를 흑연튜브에 주입한다.

(1) 방법(Method) 모드 선택

기기모드(Instrument mode) : 흡광도(Absorbance)

검량선작성모드(Calibration mode) : 표준물 첨가법
(Standard addition)

측정모드(Measurement mode) : 피크 높이(Peak height)

(2) 기기 파라미터(Instrument parameters)

램프전류(Lamp current) : 5.0mA

슬릿너비(Slit width) : 0.5nm

슬릿높이(Slit height) : 보통(Normal)

파장(Wavelength) : 232.0 nm

시료주입(Sample introduction) : 시료사전혼합모드
(Sampler premixed)

바탕보정(Background correction) : ON

(3) 주입부 파라미터(Sampler parameter)

시료주입량(Sample volume) : 15 $\mu\ell$

(4) 바탕 보정

중수소(D2) 램프 또는 지만(Zeeman) 바탕보정을 하고 0.01% Triton X-100 용액으로 기기영점(Instrument zero)을 잡고 측정한다.

(5) 흑연로 조건

흑연로 조건은 표와 같다. 이 조건은 사용하고 있는 기기의 사용설명서를 참고하여 최적 조건을 찾아야 한다.

- 혈액중 니켈 분석을 위한 원자흡광광도계 흑연로 조건

처리과정	상승시간(sec)	유지시간(sec)	온도(℃)
건조	10	40	100
회화1	15	15	350
회화2	20	15	500
회화3	5	15	1000
원자화	0	5	2650 (아르곤 유속 0)
튜브 열세척	1	2	2700

사. 정도관리

(1) 정밀도(Precision)

0.5 - 5 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 농도 수준에서 상대표준편차 2.2 - 9.3 %임.

(2) 정확도(Accuracy)

5 - 50 $\mu\text{g}/\ell$ 농도 수준에서 회수율 97 - 120%

(3) 검출한계

1.0 $\mu\text{g}/\ell$

아. 참고문헌

(1) Analytical methods for graphite tube atomizer, ed. E. Rothert, Varian Techtron Pty., 1988

(2) The THGA Graphite Furnace : Techniques and recommended conditions, Perkin Elmer Cor., 1995

(3) Biological monitoring of chemical exposure in the workplace, World Health Organization, Contribution to the International Programme on Chemical Safety, 1996

9. 베릴륨

1) 소변중 베릴륨(비불꽃AAS법)

가. 분석 원리

소변 중 베릴륨은 비불꽃법 원자흡광광도계로 분석한다. 염화 지르코늄 전처리된 흑연튜브에 시료를 주입한다. 표준물 첨가법에 의해 소변 중 베릴륨을 정량한다.

나. 시료채취

작업 종료후 일회노를 산세척한 용기에 채취한다. 시료는 냉장보관시 1주일, -20도 이하에서 냉동 보관시 6개월 이상 안정하다. 시료의 침전은 분석시료를 취하기 전 와류 혼합기로 잘 교반하여 균질하게 취한다.

다. 기구 및 시약

(1) 기구세척 및 시약 준비

사용하는 모든 초자기구는 20% 질산에 4시간 이상 담가 두었다가 탈이온수로 7회 행구어 사용한다. 탈이온수는 초순수제조장치로 제조한 비저항 18 MΩ의 것을 사용하거나 원자흡광광도계용 탈이온수를 구입하여 사용하며, 1000 ppm 베릴륨 표준용액 (BeCl_2 in 1N HCl)과 Zirconyl chloride, 질산 등은 특급시약을 사용한다.

(2) 기구

용량 플라스크

Autopipet & tip

와류 혼합기

Blood mixer

건조 오븐

(3) 시약

탈이온수

1000 ppm 베릴륨 표준용액 (BeCl_2 in 1N HCl)

Triton X-100

Zirconyl chloride

c- HNO_3

라. 시료전처리용 시약조제

(1) 포화 염화 지르코늄 용액 조제

ZrOCl_2 10g과 Triton X-100 2-3 방울을 100ml 용량 플라스크에 넣고 탈이온수로 표선을 채운다.

마. 흑연튜브 전처리

① 위에서 조제한 염화지르코늄 포화용액에 흑연튜브를 담아 상온에서 1일 밤 보관한다.

② 흑연튜브를 Dry oven에서 150 °C에서 6시간 가열한다.

③ 전처리한 흑연튜브를 원자흡광광도계에 장착하고 100 °C에서 60초, 2600

도 15초간 tube clean을 반복하여 3회 실시한다.

바. 베릴륨 표준용액 조제 [실험당일 조제]

① Be 1000ppm 원액 1ml를 탈이온수로 100ml로 희석하여 10ppm 표준용액을 만든 후, 다시 10ppm 표준용액을 1ml 취하여 탈이온수로 100ml로 희석하여 0.1ppm 표준용액을 만든다.

② Be 0.1ppm 표준용액을 탈이온수로 희석하여 Be 25, 50, 75 $\mu\text{g}/\ell$ 표준용액을 만든다.

용액번호	표준용액 농도 ppb = $\mu\text{g}/\ell$	조제법	
		0.1ppm 표준용액(ml)	탈이온수
1	25	2.5	표선 10ml 되도록
2	50	5.0	표선 10ml 되도록
3	75	7.5	표선 10ml 되도록

사. 시료 전처리

* 시료 소변은 잘 섞어준 후 취한다.

(1) 검량선 작성용 소변 처리 [표준물 첨가법]

시료번호	소변 (ml)	Be 표준용액 (용액 번호) (ml)		시료 중 Be 농도 (µg/ℓ)
addition 0	1.0	탈이온수	0.1	X + 0.0
addition 1	1.0	1	0.1	X + 2.5
addition 2	1.0	2	0.1	X + 5.0
addition 3	1.0	3	0.1	X + 7.5

(2) 시료 소변 처리

addition 0와 같다.

아. 기기조건

(1) Furnace parameters

Step No.	Temp(℃)	Time(sec)	Gas flow(ℓ/min)	
1	40	60	3	
2	140	30	3	
3	1500	20	3	
4	2660	15	0	read

(2) Method

Instrument mode : Absorbance

Calibration mode : Standard addition

Measurement mode : Peak height

(3) Instrument parameters

Lamp current : 5 mA

Slit width : 0.7 nm

Slit height : Normal

Wavelength : 234.9 nm

Sample introduction : Sampler premixed

Background correction : ON

(4) Sampler

Sample volume : 15 $\mu\ell$

자. 정도관리

(1) 정밀도(Precision)

10.0 $\mu\text{g}/\ell$ 의 농도에서 10회 측정시의 상대표준편차 6.2 %임.

(2) 정확도(Accuracy)

10.0 $\mu\text{g}/\ell$ 의 농도에서 회수율 84-90%임.

(3) 검출한계

0.5 µg 베릴륨/ ℓ 소변

참. 참고자료

(1) Working Group Analytical Chemistry, edited by J. Angerer and K.H. Schaller, Analyses of Hazardous substances in biological materials; Beryllium, vol1, p59, VCH(Weinheim, Germany), 1988

10. 불소

1) 소변중 불소(이온선택전극법)

가. 분석 원리

소변을 완충용액으로 희석하여 pH를 안정화시키고 일정한 이온강도를 유지시킨 다음 불소 이온선택전극을 사용하여 측정한다.

나. 시료 채취

플라스틱 시료채취병에 일회노를 채취한 다음 초산을 한방울 가하여 산성화한다.

시료는 냉장상태에서 이송하여 냉장고에 보관한다.

다. 기구, 시약

mV/pH meter(정확도 0.1mV)

불소용 이온선택전극(with reference electrode)

자력교반기

자동온도조절장치(thermostat)

50, 100, 250, 1000 mL 용량 플라스크

불소 표준용액(1000ppm)

Glacial acetic acid

NaCl

NaOH

Trisodium citrate dihydrate

탈이온수

라. 시약 조제

(1) 10M NaOH 용액

NaOH 40g을 비이커에 가능한 빨리 무게를 단다. 탈이온수로 용해 시켜 100 ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 맞춘다.

(2) TISAB(total ion strength adjustment buffer)

57ml glacial acetic acid, 58g NaCl, 300mg sodium citrate dihydrate를 500 ml의 탈이온수에 녹인다. 10M NaOH 용액을 가하여 pH를 5.5로 맞춘 후 탈이온수를 가해 표선을 1 l로 맞춘다. 냉장보관시 오래동안 안정하게 보관할 수 있다.

(3) 검량선 작성용 표준시료

① 원용액 조제

불소 1000ppm 표준용액 5ml를 50ml 용량플라스크에 취하고 표선을 맞춘다. (100mg/l). 검량선 작성용 표준시료는 0.2에서 10mg/l의 농도 수준에서 아래 표와 같이 희석하여 만든다. [실험당일 조제]

100mg/ℓ 원용액 부피 (ml)	표준용액 최종부피 (ml)	표준용액 최종농도 (mg/ℓ)
0.5	250	0.2
0.5	100	0.5
0.5	50	1.0
1.0	50	2.0
2.0	50	4.0
5.0	50	10.0

마. 시료 전처리

초산으로 산성처리된 소변 5ml를 플라스틱 병에 옮기고 자력교반기 위에서 잘 섞어주면서 아래와 같이 측정한다. 이온선택전극은 온도에 매우 민감하므로 자력교반기의 모터의 열이 과열되는 것에 영향받지 않도록 자동온도조절장치를 사용한다.

바. 기기 조건

5ml의 TISAB용액을 5ml의 시료소변에 가한다. Reference 이온전극이 부착된 불소용 이온선택전극을 시료 용액에 담근다. 약 2분 후에 mV-meter scale의 전위차를 측정한다. 매회 측정시 검량선을 작성하고 공검액도 측정한다.

앞의 표에서 조제한 검량선 작성용 표준시료를 사용하여 mV 단위로 전위를 측정하여 시료중 불소농도(mg/ℓ)의 로그값에 대하여 검량선을 작성한다.

사. 정도관리

- (1) 정밀도 : 2.15 mg/ℓ 농도수준에서 상대표준편차 1.6%(n=20)
- (2) 정확도 : 0.37 - 12.0 mg/ℓ 농도수준에서 회수율 92-99%
- (3) 검출한계 : 0.1 mg 불소/ℓ 소변시료

아. 참고문헌

- (1) A Zober, M Geldmacher-v Mallinckrodt, KH Schaller, Renal fluorides excretion as a useful parameter for monitoring hydrofluoric acid-exposed persons, Int Arch Occup Environ Health 40, 12-24, 1977
- (2) K Chiba, K Tsunoda, H Haraguchi, K Fuwa, Determination of fluorine in urine and blood serum by aluminium monofluoride molecular absorption spectrometry and with a fluoride ion selective electrode, Anal Chem 52, 1582-1585, 1980

제 2 장 유 기 분 석

4. 벤젠

- 1) 요중 t,t-muconic acid(HPLC법) : I-144
- 2) 요중페놀(GC법) : I-147
- 3) 요중 S-phenylmercapturic acid(HPLC법) : II-65
- 4) 혈중 벤젠(헤드스페이스 GC법)

가. 분석 원리

대사되지 않은 형태로 혈액이나 소변 중에 남아 있는 벤젠 자체를 분석함으로써 직접 유기용제 폭로의 정도를 측정할 수 있다. 혈액이나 소변중의 대사되지 않은 유기용제 자체는 헤드스페이스 GC법을 이용해 분석한다.

나. 시료 채취

헤드스페이스 용 바이알에 0.5 ml의 시트르산 텍스트로즈 용액을 가하고 셉텀으로 마개를 한다. 혈액 1 ml를 가했을 때 해당되는 부피에 유성 펜으로 표시를 한다. 작업 종료 직후 또는 오전, 오후 작업 종료 직후 혈액을 1 ml 이상 채취한다. 유기용제 성분의 휘발로 인한 손실을 막기 위해, 미리 준비한 용기

에 표시된 눈금에 맞춰 직접 혈액을 헤드스페이스 용 바이알에 채취한다. 헤드스페이스 부피에는 큰 차이가 없으므로 가하는 시료의 부피가 지나치게 정밀할 필요는 없다. 분석 전 까지 시료는 냉장보관하고, 분석은 시료 채취 후 24 시간 이내 완료한다.

다. 기구, 시약

용량플라스크 1ℓ 1개, 100ml 3개, 10ml 7개

자동피펫 10-100, 200-1000 μ l

헤드스페이스 GC 바이알

벤젠(표준물질)

이소부탄올(내부표준물질)

Sodium citrate

Dextrose

Citric acid

탈이온수

라. 시약 조제

(1) 표준용액 조제

① 벤젠 20mg(23 μ l)을 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 200ppm 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다.

② 표준용액 원액을 0.5ml 취하여 10ml 용량플라스크에서 탈이온수로 희석하여 10ppm 용액을 만든다. 이 용액을 0.5, 1.5, 2.5ml씩 취하여 10ml 용량플라

스크에서 탈이온수로 희석하여 0.5, 1.5, 2.5ppm의 용액을 만들고 다시 각 용액을 1/10로 희석하여 0.05, 0.15, 0.25ppm의 표준용액을 만든다. 이 6가지 농도의 표준용액을 검량선용 표준용액으로 한다. 탈이온수를 blank로 한다.

(2) 내부표준용액 및 시약 조제

① 이소부탄올 100mg($120\mu\text{l}$)을 100ml 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 1000ppm 표준용액을 만든다.

② 이소부탄올 1000ppm 표준용액을 2ml 취하여 100ml 용량플라스크에서 탈이온수로 희석하여 20ppm 용액을 만든다. 이 용액을 내부표준용액으로 사용한다.

③ Citric acid 4.8g, sodium citrate 13.2g, dextrose 14.7g을 1L 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 citric acid dextrose 용액을 만든다.

마. 시료 전처리

시트르산 텍스트로즈 용액 0.5 ml, 혈액 1 ml가 들어있는 헤드스페이스 바이알에 내부표준용액 0.5 ml를 가하고 3분간 잘 섞어준 후 헤드스페이스 가스크로마토그래피용 분석 시료로 한다.

바. 기기 조건

(1) GC 조건

① 컬럼 Carbowax-20 25m x 0.32mm ID x 0.3 μm film thickness

② 온도

- Oven 70 $^{\circ}\text{C}$

- Injector 220℃

- Detector(FID) 250℃

③ Flow : Total 100ml/min

④ Split ratio 50:1

(2) 헤드스페이스 조건

① 온도

- 시료 60℃

- 주입관 65℃

② 시간

- 가열 120분

- 가압 10초

- 주입 30초

사. 정도관리

(1) 정밀도 : 1mg/ℓ 농도 수준에서 상대표준편차 2.1% (n=5)

(2) 정확도 : 1mg/ℓ 농도 수준에서 회수율 91 -96.5%

(3) 검출한계: 3ug/ℓ

아. 참고문헌

(1) Working Group Analytical Chemistry, edited by J. Angerer and K.H. Schaller, Analyses of Hazardous substances in biological materials; Benzene, vol4, p107, VCH(Weinheim, Germany), 1988

(2) L Perbellini, GB Faccini, G Pasini, F Cazoli, S Pistooia, R Rosellini, M Valscci, F Brugnone, Environmental and occupational exposure to benzene by analysis of breath and blood, Br J Ind Med 45, 345-352 (1988)

5. 삼염화에틸렌

- 1) 혈액 중 삼염화에탄올(헤드스페이스 GC법) : I-149
- 2) 소변 중 삼염화초산, 삼염화에탄올(헤드스페이스 GC법) : I-152
- 3) 소변 중 총 삼염화물 (UV법) : II-70
- 4) 소변중 삼염화초산 (UV법) : II-74
- 5) 소변중 삼염화초산, 삼염화에탄올(GC법)

가. 분석원리

삼염화초산은 휘발성이 없으므로 메틸유도체화하여 휘발성을 부여하여 분석한다. 삼염화에탄올의 포합체는 산으로 가수분해하여 유리형 삼염화에탄올의 형태로 분석한다. 헤드스페이스 시료자동주입기가 없는 경우 산성조건에서 삼염화초산을 메틸유도체화하고 삼염화에탄올의 포합체를 가수분해한 후 유기용매로 추출하여 가스크로마토그래피에 직접 주입하는 방법을 사용할 수 있다.

나. 기구 및 시약

화학저울

와류혼합기

용량플라스크

피펫 10-100 μl , 200-1000 μl

삼염화에탄올($d_{20}^{20} = 1.55$)

삼염화초산

오르토-디클로로벤젠

노르말헥산

탈이온수

황산

메탄올

다. 시료처리

- (1) 검량선 작성용 표준시료 또는 소변 시료 0.2 ml에 황산 0.2 ml, 메탄올 0.1 ml를 가하고 90℃에서 15분간 가온한다.
- (2) 반응이 끝난 뒤 상온에서 반응 바이알을 식힌다.
- (3) 내부표준물질이 첨가된 추출용매 (40 ppm 오르토-디클로로벤젠의 노르말헥산 용액) 1 ml를 가하고 1분간 와류혼합기로 세게 흔들어 추출한다.
- (4) 헥산층을 취하여 가스크로마토그래피용 검액으로 한다.

라. 기기조건

(1) GC조건

① 컬럼

- HP-INNOWAX (30 m x 320 μ m x 0.15 μ m film thickness)

② 온도

- 주입부 250℃
- 검출기 250℃

- 컬럼 100℃(5분) - (20℃/분) - 180℃(6분)

③ 시료주입비 50:1(직접주입법)

④ 검출기 : 전자포획검출기(Ni^{63} ion source)

마. 정도관리

(1) 정밀도(Precision)

삼염화초산 0.1 - 50.0 mg/ℓ 농도 수준에서 상대표준편차 0.5 - 2.1%임.

삼염화에탄올 0.1 - 100.0 mg/ℓ 농도 수준에서 상대표준편차 0.5 - 2.0%임.

(2) 정확도(Accuracy)

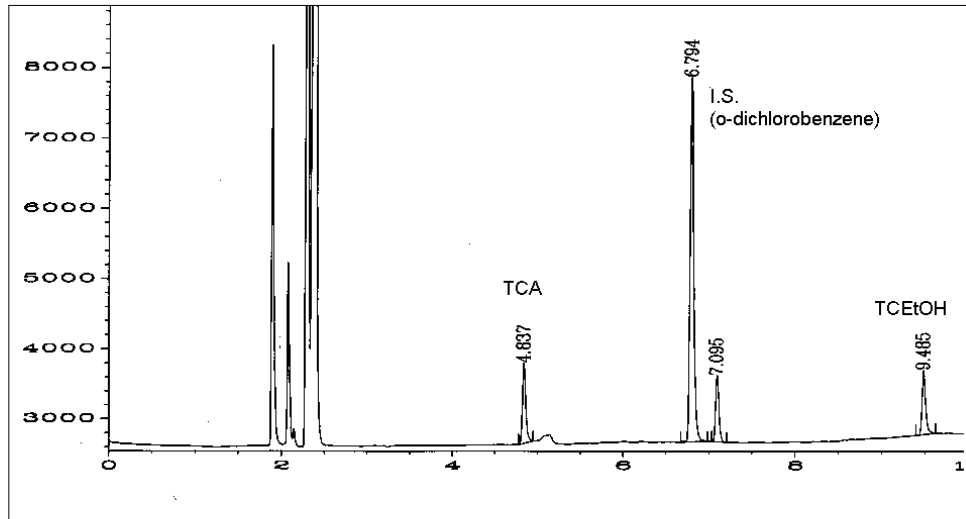
삼염화초산 1.5 - 10 mg/ℓ 에서 상대오차 2.5 - 13.6%

삼염화에탄올 19 - 77 mg/ℓ 에서 상대오차 1.9 - 8.9%

(3) 검출한계

삼염화초산 및 삼염화에탄올 0.5 µg/ℓ

바. 분석 결과 크로마토그램



사. 참고문헌

- (1) S. Tanaka and M. Ikeda, Determination of trichloroethanol and trichloroacetic acid in the urine. Brit. J. Industr. Med. 25, 214-219 (1968)
- (2) 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)
- (3) H. Nomyama, K. Nomyama and H. Uchiki, Gas-liquid chromatographic determination of trichloroethylene metabolites in urine, Am. Ind. Hyg. Assoc. J., 39, 506-510(1978)

- (4) Working Group Analytical Chemistry, edited by J. Angerer and K.H. Schaller, Analyses of Hazardous substances in biological materials, 1994
- (5) WHO/HPR/OCH, Biological monitoring of chemical exposure in the workplace; 1998
- (6) TCE폭로 근로자의 생물학적 모니터링에 관한 연구, 한국산업안전공단 연구자료 94-5-8, 1994

10. 이황화탄소

1) 소변 중 TTCA(2-thioxothiazolidine-4-carboxylic acid; HPLC법)

가. 분석원리

충분량의 염을 가해 analyte를 유기용제 층으로 이행시켜 추출한 뒤 농축하여 액체크로마토그래피로 분석.

나. 시료 채취

작업 종료 후 일회뇨를 플라스틱 소변 채취통에 취한다. 약 1% 농도가 되도록 (1ml glacial acetic acid in 100 ml 소변) glacial acetic acid를 가한다. 즉시 분석할 수 없을 때는 냉동 보관한다.

다. 기구, 시약

고성능 액체크로마토그래프

15 ml 시험관

Vortex mixer

10, 20, 100, 1000ml 용량 플라스크

회전 농축기

10ml 뚜껑있는 시험관

원심분리기

파스테르 피펫

0.1, 0.2, 0.3, 0.5, 0.8, 1ml 피펫

TTCA(2-thioxothiazolidine-4-carboxylic acid)

염화나트륨

염산(30%)

디에틸에테르

메탄올

아세토니트릴

초순수

라. 시약 조제

Mobile phase A : 50% 아세토니트릴/50% 초순수

Mobile phase B : 0.1M 초산(pH 3.0) - 약 500 ml의 초순수를 1000ml 용량 플라스크에 넣고 6.0 ml의 glacial acetic acid를 가하고 표선을 맞춘다.

마. 표준용액 준비

검량선 작성용 표준용액은 이황화탄소에 노출되지 않은 정상인의 소변을 사용한다. 약 20 mg의 TTCA를 정밀하게 평량한 다음 100ml 용량플라스크에 취한다. 공시험용 소변을 사용하여 표선을 맞춘다. TTCA가 확실하게 용해되도록 잘 섞어준다. 200mg/l의 진용액은 약 2달간 냉장 보관할 수 있다.

위에서 조제한 200 mg/l의 진용액을 공시험용 소변으로 다음 표와 같이 희석하여 검량선 작성용 표준용액을 만든다.

- 검량선 작성용 표준용액 희석법

진용액 부피(ml)	최종희석액 부피(ml)	농도(mg/ℓ)
0	10	0
0.1	20	1.0
0.1	10	2.0
0.2	10	4.0
0.3	10	6.0
0.5	10	10.0
0.8	10	16.0
1.0	10	20.0

바. 시료의 전처리

5 ml의 소변을 15 ml glass stopper가 딸린 시험관에 취한다. 염화나트륨으로 포화시킨 후 0.1ml의 30% 염산을 가한다. shaker에서 약 1분간 섞은 후 3.5 ml의 diethyl ether를 가하고 다시 약 1분간 잘 섞는다. 혼합액은 3000g에서 5분간 원심분리한다. 파스텔 피펫을 사용하여 가능한 모든 에테르 층을 취하여 10 ml 뚜껑있는 바이알에 옮긴다. 회전 증발기에서 30℃에서 증발 건조시킨다. 잔사를 0.5 ml 메탄올에 녹인 용액을 HPLC용 검액으로 한다.

아. 기기 조건

- HPLC 컬럼 : C18(5um), 15cm x 2.1mm
- UV detector : 273 nm
- 컬럼온도 : 38°C
- 이동상 : A; 50% acetonitrile / 50% water
B; 0.1M acetic acid, pH 3
- 유속 : 1.0 ml/min
- 시료주입량 : 20 μ l
- Gradient program

시간	A(%)	B(%)
0	2	98
8.0	70	30
18.0	70	30

사. 정도관리

- 정밀도 : 1.0 - 5.0 mg/K 농도범위에서 상대표준편차 1.7 - 5.9%
- 검출한계 : 0.2 mg/ ℓ

아. 참고문헌

(1) Working Group Analytical Chemistry, edited by J. Angerer and K.H. Schaller, Analyses of Hazardous substances in biological materials, 1994

(2) J. Rosier, R. Van Doorn, R. Grosjean, A. van de Walle, G. Billemont ,
C. van Petegham, Preliminary evaluation of urinary 2-thio-thiazolidine-4-
carboxylic acid levels as a test for exposure to carbon disulfide, Int Arch
Occup Environ Health 51, 159-167, 1982

11. COE (Coke Oven Emissions)

1) 소변 중 1-Hydroxypyrene (HPLC법)

가. 분석 원리

소변 중의 자유형 및 결합형 1-hydroxypyrene의 정량은 효소반응을 이용하여 결합형을 유리형으로 만든 다음 역상컬럼에서 solid phase extraction을 사용하여 전처리하여 농축시킨다. 농축물중의 1-hydroxypyrene은 HPLC를 이용하여 역상컬럼에서 분리하여 형광 검출기를 사용하여 검출한다.

나. 시료의 채취

최소한 3-4일 작업 종료 후의 일회뇨를 채취한다.(주말 작업 종료 후 시료)
시료는 채취 후 가능한 빨리 -18 °C로 냉동한다.

다. 기기 및 기구

수조(진탕 가능한 것)

초음파 진탕기

pH meter

탁상형 원심분리기

solid phase extraction apparatus

Sep-Pak catridges

Vacuum pump

Centri-Vacuum concentrate system

또는 질소 기류 농축 장치

삼각플라스크 100 ml (시료 수 x 1.5)

용량 플라스크 10, 100, 1000 ml

피펫 5, 10, 20 ml

자동피펫 1000 μ l

마개달린 시험관 10ml

라. 시약

1-Hydroxypyrene (98%, Janssen Chimica, Belgium)

β -glucuronidase/aryl sulphatase solution (e.g. 100,000 Fisherman U/ml,
800,000 Rpy U/ml, Boehringer, Germany)

Glacial-acetic acid

HPLC grade 메탄올

염산

증류수

마. 시약 조제

(1) 2M sodium hydroxide

8g의 sodium hydroxide를 비이커에 단다. 약 50ml의 증류수를 가하여 잘 녹인 후 100ml 용량 플라스크에 옮긴다. 증류수로 표선을 맞춘다.

(2) 4M 염산

약 40ml의 증류수를 100ml 용량 플라스크에 넣고 32ml의 37% glacial acetic

acid를 서서히 가한 후 잘 섞고 증류수로 눈금을 맞춘다.

(3) 0.1M acetate buffer(pH 5)

약 400ml의 증류수를 1000 ml 용량플라스크에 넣고 5.7ml의 glacial acetic acid를 가한다. 2M sodium hydroxide 용액을 사용하여 pH를 5.0으로 맞춘다. 나머지 용량을 증류수로 채워 눈금을 맞춘다.

(4) 표준용액 조제

① 약 2mg의 1-hydroxypyrene을 10 ml 용량플라스크에 정밀하게 단 후 메탄올로 표선을 맞춘다. (약 200 mg/ℓ) 이것을 표준용액 원액으로 한다.

② 표준용액 원액을 100 μℓ를 취하여 10ml 용량 플라스크에 넣고 메탄올로 표선을 채운다. (2 mg/ℓ)

③ 표준용액 원액을 100 μℓ를 취하여 100ml 용량 플라스크에 넣고 메탄올로 표선을 채운다. (0.2 mg/ℓ)

바. 시료의 전처리

① 해동 한 시료는 교반기에서 잘 섞은 후 10 ml를 삼각플라스크에 취한다. 20 ml 0.1M acetate buffer를 가하여 최종 용량을 30ml로 한다.

② 4.0M 염산을 사용하여 희석된 소변의 pH를 5.0으로 맞춘다.

③ 12.5μℓ의 β-glucuronidase/aryl sulphatase를 가하고 삼각플라스크를 파라필름으로 봉한 뒤 수조에서 37도에서 교반하며 overnight한다. 효소 가수분해가 끝난 뒤에는 플라스틱 용기를 사용해서는 안된다.

④ Solid phase extraction은 C-18컬럼을 사용한다. Pre-conditioning(5ml 메

탄올로 세척 후 5ml 물로 세척한다.)이 끝난 카트리지 컬럼에 약하게 진공을 걸어 가수분해된 소변 시료를 약 10 ml/min의 속도로 loading 한다.

⑤ 10 ml의 물로 세척 후 9 ml의 메탄올로 용출시킨다.

⑥ 용출된 용액은 질소 기류 하에서나 센트리 벤크 등을 이용해 용매를 휘발, 건조 시킨다.

⑦ 건조 후 남은 잔사에 2 ml의 메탄올을 가해 초음파진탕기에서 추출한다.

⑧ 600g에서 5분간 원심분리 후 상정액 1.5ml를 바이알에 취하여 HPLC용 검액으로 한다. 처리된 시료는 약 2달 간 안정하며 매회 실험마다 증류수를 사용하여 공시험을 한다.

사. 기기(HPLC)조건

(1) 컬럼 RP C18(5 μ m), 15cm x 2.1mm

(2) 이동상

A : 40% methanol / 60% water (v/v)

B : 100% methanol

Gradient program :

Time(min)	A(%)	B(%)
0	90	10
40	10	90
50	90	10

(3) 유속 : 0.3ml/min

(4) 검출기 : 형광검출기(242nm/388nm ex/em)

아. 정도관리

(1) 정밀도(Precision)

8.8 - 33.0 $\mu\text{g}/\ell$ 농도 범위에서 상대표준편차 3.7 %임.

(2) 정확도(Accuracy)

8.8 - 33.0 $\mu\text{g}/\ell$ 농도 범위에서 회수율 83 - 88%

(3) 실험실간 외부정도관리 프로그램 및 표준시료
독일 산업보건 국제 정도관리프로그램 환경분석분야.

(4) 검출한계

0.5 $\mu\text{g}/\ell$

차. 참고문헌

(1) FJ Jongeneelen, RBM Anaion, PT Henderson, Determination of hydroxylate metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in urine, J. Chromatogr. 412, 227-232, 1987

(2) W Gunther, JP Matthes, and HH Perkampus(eds), Instrumentalized Analytical Chemistry and Computer Technology : Determination of the PAH-metabolite 1-hydroxypyrene by HPLC-column switching techniques, Git, Darmstadt, 128, 1990

(3) Working Group Analytical Chemistry, edited by J. Angerer and K.H. Schaller, Analyses of Hazardous substances in biological materials, vol3, 157 1994

12. Cyanide

1) 혈중 시안화수소(헤드스페이스 GC법)

가. 분석 원리

시아나이드를 함유하고 있는 혈액에 초산을 가하여 시아나이드 이온을 유리시킨 후 헤드스페이스 GC법을 이용해 분석한다.

나. 시료 채취

항응고제가 포함된 일회용 시료채취용 주사기로 시료를 채취한 다음, 휘발성 성분의 휘발로 인한 손실을 막기 위해 즉시 헤드스페이스 GC 바이알에 옮기고 마개를 한다. 시료 분석은 채취후 24시간 이내 완료하고 분석전까지 시료는 냉장보관한다.

다. 기구, 시약

용량플라스크 10ml, 20ml, 50ml, 100ml

자동피펫 10-100, 200-1000 μ l

헤드스페이스 GC 바이알

와류혼합기

원심분리기

NaCN(표준물질)

Glacial acetic acid

탈이온수

라. 시약 조제

(1) 원용액 조제

10mg의 NaCN (5.3 mg cyanide에 해당)를 정밀하게 달아 50ml 용량플라스크에 옮기고 균질화 및 안정화 전처리된 공시료 혈액으로 표선을 채운다. (106 mg cyanide / ℓ blood)

(2) 표준용액

원용액 2ml를 20ml 용량 플라스크에 넣고 균질화 및 안정화 전처리된 공시료 혈액으로 표선을 채운다(10.6 mg cyanide / ℓ blood) 이 표준용액을 아래 표와 같이 희석하여 0.2에서 4.2 mg/ℓ 농도 수준의 검량선 작성용 표준용액을 만든다.

가할 10.6mg/ℓ 용액 부피 (ml)	최종용액부피 (ml)	최종cyanide농도 (mg/ℓ)
4	10	4.2
2	10	2.1
1	10	1.1
1	20	0.5
1	50	0.2

마. 시료 전처리

① 헤드스페이스 바이알에 채취해온 시료에 100μℓ 주사기를 사용하여 50μℓ의 glacial acetic acid를 septum을 통하여 헤드스페이스 바이알에 가한다.

② hydrogen cyanide를 유리시키기 위하여 30초 동안 와류혼합기를 사용하여 충분히 섞어준 후 3000rpm에서 3분간 원심분리한다.

③ 시료 반응액을 3분간 상온에서 방치한다.

바. 기기 조건

(1) GC 조건

① 컬럼 SE30 25m x 0.32mm ID x 0.3 μ m film thickness

② 온도

- Oven 80℃
- Injector 220℃
- Detector(ECD) 300℃

③ Detector: Thermoionic nitrogen selective detector

④ Carrier gas: nitrogen, make up gas; 35ml/min

⑤ Detector gas: hydrogen/air

(2) 헤드스페이스 조건

① 온도

- 시료 60℃
- 주입관 65℃

② 시간

- 가열 120분
- 가압 10초
- 주입 30초

③ 주입량: 400 μ l

사. 정도관리

- (1) 정밀도 : 0.54-2.20mg/ℓ 농도 수준에서 상대표준편차 4.6-7.5%
(n=10)
- (2) 정확도 : 0.19-2.11mg/ℓ 농도 수준에서 회수율 84 -107%
- (3) 검출한계: 0.1mg/ℓ

아. 참고문헌

- (1) F McAuley and DS Reive, Rapid quantitation of cyanide in blood by gas chromatography, J Anal Toxicol 7, 213-215, 1983
- (2) Working Group Analytical Chemistry, edited by J. Angerer and K.H. Schaller, Analyses of Hazardous substances in biological materials; Cyanide, vol2, p133, VCH(Weinheim, Germany), 1988
- (3) Working Group Analytical Chemistry, edited by J. Angerer and K.H. Schaller, Analyses of Hazardous substances in biological materials; Cyanide, vol2, p133, VCH(Weinheim, Germany), 1988

부 록

-‘근로자 건강진단 실무지침’ 보완사항 중 생물학적 모니터링 관련 사항-

IV. 생물학적 노출지표검사

1. 작업자의 노출상태와 생물학적 노출지표검사

근로자의 유해물질에 노출되는 정도를 파악하는 방법으로 작업환경측정이 있는데, 이는 근로자의 호흡구 위치에서 공기를 채취하여 분석한 것으로 실제 근로자가 흡수한 유해물질의 량과는 차이가 있을 수 있다. 또 같은 양의 유해물질을 흡수한다 하더라도 물질의 대사기전과 개인의 차이에 의해 독성을 일으키는 정도는 다를 수 있다. 그리고, 작업환경측정은 호흡기를 통해 흡수되는 양을 파악하는 것이므로 보호구를 착용하는 경우, 피부로도 흡수되는 물질을 측정하는 경우의 체내 흡수량은 당연히 다를 수밖에 없다. 이러한 점을 고려하여 근로자의 생체시료(혈액, 소변, 호기, 머리카락 등)를 이용하여 근로자의 노출정도를 파악하는 것이 생물학적 노출지표검사이다.

생물학적 노출지표검사는 혈액, 소변, 모발 등 생체시료로 부터 유해물질 그 자체, 또는 유해물질의 대사산물 또는 생화학적 변화산물 등 ‘생물학적노출지표(물질)’을 분석하여 유해물질 노출에 의한 체내 흡수정도 또는 건강영향 가능성 등을 평가하는 것을 말한다.

2. 생물학적 노출기준값

생물학적 노출기준값이란 일주일에 44시간 작업하는 근로자가 노동부고시에서 제시하는 작업환경 노출기준 정도의 수준에 노출될 때 혈액 및 요중에서 검출되는 생물학적노출지표의 수치이다. 노출기준값은 주 44시간의 작업을 할 때 대부분의 근로자들에게 건강상의 장애를 주지 않는 수준이다. 노출기준값 이상의 수준에 장기간 노출될 경우에는 해당 유해물질에 의해 건강상의 장애를 일으킬 수 있다. 그러나, 근로자가 노출기준값을 넘는 수치를 보였다고 해서 이것이 비가역적인 건강장애가 있다는 것을 의미하지는 않는다. 마찬가지로 노출기준값 이하에서도 해당 유해물질에 의한 건강장애가 나타날 수 있다.

대부분의 물질에서 생물학적 노출기준은 해당 물질이 실질적으로 체내에 흡수된 양을 의미한다. 많은 양의 유해물질이 체내에 장기간 흡수되면 건강장애를 일으킬 가능성이 높다. 따라서, 생물학적 노출지표의 값이 높다는 것은 ‘현재 건강장애가 있다’라기보다 ‘현재 있을 가능성이 높거나 앞으로 발생할 가능성이 높다’는 것을 의미한다.

※ 그 동안 요 및 혈중 대사물질과 유해물질검사에서 제시하여 왔던 3단계의 기준값(참고치-주의한계-선별한계)는 과학적인 근거가 약하므로 폐지하였고, 생물학적 노출기준값만을 제시하여 노출평가시에 참고하도록 하였다.

3. 대상 생물학적 노출지표물질의 종류

가. 항목 분류

개정된 특수건강진단제도에서는 생물학적 노출지표검사에서 실시할 수 있는

생물학적 노출지표 물질을 필수와 선택지표물질로 구분하였다. 필수지표물질은 건강진단의 필수항목에 포함되어 있어 반드시 실시하여야 하는 노출지표물질이며, 선택지표물질은 선택항목 검사시 필요하다고 인정되는 경우에 실시할 수 있는 노출지표물질이다. 필수지표물질은 중금속 3종류, 유기용제 7종 10항목, 특정화학물질 1종으로 모두 11종 14항목이 규정되어 있다(표 1).

선택지표물질은 중금속은 8종의 9항목을 규정하였고(표 2), 유기용제는 12종 13항목, 특정화학물질은 8종의 12목, 기타 1종 1항목 등 29종 38항목을 규정하였다(표 3).

특수건강진단 항목에는 필수나 선택지표물질로 규정되어 있지는 않지만, 유기용제 2종 3개 항목과 특정화학물질 1종 1개 지표를 권장지표물질로 제시하였다(표 3).

<표 1 생물학적 노출지표검사의 필수항목>

구분	유해물질	생물학적 노출지표물질
중금속	납	혈중 연
	수은	요중 수은
	카드뮴	혈중 카드뮴
유기용제	톨루엔	요중 마노산
	크실렌	요중 메틸마노산
	스티렌	요중 만델산과 페닐글리옥시산
	트리클로로에틸렌	요중 삼염화초산 또는 총삼염화물
	퍼클로로에틸렌	요중 삼염화초산
	1,1,1-트리클로로에탄	요중 삼염화초산 또는 총삼염화에탄올
	디메틸포름아미드	요중 엔메틸포름아미드
특정화학물질	일산화탄소	혈중 카복시헤모글로빈

나. 생물학적 노출지표의 노출기준값 및 분석법

<표 2 생물학적 노출지표검사에서 중금속의 노출기준값 및 검사방법>

구분	유해 물질명	시료 채취		지 표 물질명	검사방법**	검사값		표시단위
		종류	시기*			일반인	노출기준	
필수	납	혈액	수시	납	AAS	4-6	40	μg/dL
	수은	소변	수시	수은	AAS	3.5	100	μg/L
	카드뮴	혈액	수시	카드뮴	AAS	2	5	μg/L
선택	납	혈액	수시	ZPP	hematofluoro meter		100	μg/dL
		소변	수시	δ-ALA	HPLC · UV	2	5	mg/L
	수은	혈액	수시	수은	AAS	3-5	15	μg/L
	카드뮴	소변	수시	카드뮴	AAS	2	5	μg/g crea.
	크롬	소변	당일	크롬	AAS	2-4	10	μg/g crea.
			주말	크롬	AAS	2-4	30	μg/g crea.
	니켈	소변	주말	니켈	AAS	5	80	μg/L
	망간	혈액	당일	망간	AAS	8	36	μg/L
	바나듐	소변	주말	바나듐	AAS	1	50	μg/g crea.
	비소	소변	주말	비소	AAS	100	220	μg/L

* 당일: 당일 작업 종료 2시간 전부터 직후까지, 주말: 목요일이나 금요일 또는 4-5일간의 연속작업의 작업 종료 2시간 전부터 직후까지, 수시: 하루중 아무때나,

** HPLC; high performance liquid chromatography, UV; ultra violet-visible spectrometer, AAS; atomic absorption spectrometer

<표 3 유기용제 및 특정화학물질 필수항목의 노출기준값 및 분석법>

구분	종류	번호	유해 물질명	시료채취		지표물질명	분석법*	검사	표시단위*	비고
				종류	시기			값 노출 기준		
필수	유기용제	39	크실렌	소변	당일	메틸마노산	HPLC,GC	1.5	g/g crea.	
		40	퍼클로로에틸렌	소변	주말	삼염화초산	GC	5	mg/L	
		41	톨루엔	소변	당일	마노산	HPLC,GC	2.5	g/g crea.	피부
		42	스티렌	소변	당일	만델산	HPLC,GC	800	mg/g crea.	피부
				소변	당일	페닐글리옥시산	HPLC,GC	240	mg/g crea.	피부
		44	1,1,1트리클로로에탄	소변	주말	삼염화초산	GC	10	mg/L	
				소변	주말	총삼염화에탄올	GC	30	mg/L	
				소변	주말	총삼염화물	GC, UV	300	mg/g crea.	
				소변	주말	삼염화초산	GC	100	mg/g crea.	
		52	디메틸포름아미드	소변	당일	N-메틸포름아미드	GC	40	mg/L	피부
선택	유기용제	47	노르말렉산	소변	당일	2,5-헥산디온	GC	5	mg/g crea	
		8	디클로로메탄	혈액	당일	카복시헤모글로빈	GC	3.5	%	
		9	메틸알코올	소변	당일	메탄올	GC	15	mg/L	
		13	메틸에틸케톤	소변	당일	메틸에틸케톤	GC	2	mg/L	
		14	메틸이소부틸케톤	소변	당일	메틸이소부틸케톤	GC	2	mg/L	
		19	아세톤	소변	당일	아세톤	GC	80	mg/L	
		21	에틸렌글리콜모노에틸에테르 (셀로솔브)	소변	주말	2-에톡시초산	GC	100	mg/g crea	피부
		22	에틸렌글리콜모노에틸아세테이트(셀로솔브아세테이트)	소변	주말	2-에톡시초산	GC	100	mg/g crea	피부
				혈액			GC	50	mg/L	
		26	이소프로필알코올	소변	당일	아세톤	GC	50	mg/L	
		4	이황화탄소	소변	당일	TTCA	HPLC	5	mg/g crea	
		29	초산메틸	소변	당일	메탄올	GC	2	mg/L	
		38	클로로벤젠	소변	당일	총 클로로카테콜	GC	150	mg/g crea	

<표 3. 유기용제 및 특정화학물질 필수항목의 노출기준값 및 분석법-계속>

구분	종류	번호	유해 물질명	시료채취		지표물질명	분석법**	검사	표시단위	비고
				종류	시기*			값 노출 기준		
선 화 학 택 물 질	특 정 화 학 물 질	8 벤젠	1 ppm기준	소변	당일	S-페닐머캅토산	GC	45	μg/g crea	피부
				소변	당일	유콘산	HPLC	2	mg/L	
			10ppm기준	소변	당일	페놀	GC	50	mg/L	
		11 불화수소	소변	당일	불화물	이온선택 전극법	10	mg/g crea		
		28 일산화탄소	혈액	당일	카복시헤모글로빈	UV	5	%		
			호기	당일	카복시헤모글로빈	UV	40	ppm		
		29 질산	혈액	수시	메트헤모글로빈	UV	1.5	%		
		30 콜타르	소변	주말	1-하이드록시피렌	HPLC	4.6	μg/g crea		
		33 파라니트로클로로벤젠	혈액	수시	메트헤모글로빈	UV	1.5	%		
	34 파라디메틸아미노아조벤젠	혈액	수시	메트헤모글로빈	UV	1.5	%			
	36 펜타클로로페놀(나트륨)	소변	수시	총펜타클로로페놀	GC	2	mg/g crea	피부		
		혈액	당일	유리펜타클로로페놀	GC	5	mg/L			
	권 장	기타	1 코우크스	소변	주말	1-하이드록시피렌	HPLC	4.6	μg/g crea	
유 기 용 제		41 톨루엔	소변	당일	o-크레졸	GC	0.8	mg/L		
			혈액	당일	톨루엔	GC	1	mg/dL		
		40 퍼클로로에틸렌	혈액	주말	퍼클로로에틸렌	GC	1	mg/dL		
특정		35 페놀	소변	당일	페놀	GC	250	mg/g crea	피부	

* 당일: 당일 작업 종료 2시간 전부터 직후까지, 주말: 목요일이나 금요일 또는 4-5일간의 연속작업의 작업 종료 2시간 전부터 직후까지, 주시: 하루중 아무때나

** GC; gas chromatography, HPLC; high performance liquid chromatography, UV; ultra violet-visible spectrometer

4. 생물학적 노출지표검사에서 유의해야 할 점

가. 실시시기

특수건강진단기관이 해당 사업장의 생물학적 노출지표검사를 실시할 때는 정상작업이 이루어지고 있을 때 실시하여야 한다. 그리고, 가급적 작업환경측

정 시점과 동일한 시점에 생물학적 노출지표검사를 실시한다면, 개인별 노출량 평가 자료로서 작업환경 측정 자료와 함께 근로자 건강진단에 활용할 수 있을 것이다.

나. 시료채취시기

생물학적 노출지표검사를 할 때는 정해진 시료 채취시기를 따라야 한다. 땀이나 카드뭍처럼 아무 때나 시료를 채취해도 일정한 농도 수준을 유지하는 물질이 있는 반면, 대부분의 유기용제처럼 작업 종료 직후에 가장 높은 농도를 유지하다가 수 시간 이내에 농도가 급격히 낮아지는 물질이 있다. 이는 물질의 생체 내 배설반감기의 차이로 인해 발생하는데 같은 작업을 하는 근로자도 채취시간에 따라 생물학적 노출지표의 농도가 크게 차이가 날 수 있다. 그러므로, 시료채취는 정해진 시기를 지켜야 하고, 건강진단을 할 때 아무 시기에 채취하지 않아야 한다.

시료채취시기는 해당 물질의 생물학적 반감기를 고려하여 ‘수시’, ‘당일’, ‘주말’로 구분하였다. ‘수시’란 하루 중 아무 때나 시료를 채취하여도 되며, ‘당일’을 당일 작업 종료 2시간 전부터 직후까지, ‘주말’이란 목요일이나 금요일 또는 4-5일간의 연속작업의 작업 종료 2시간 전부터 직후까지를 말한다.

다. 시료채취용기, 채취량, 채취방법

시료채취용기는 오염되지 않은 것을 사용하여야 한다. 혈중 및 요중 중금속 농도는 매우 미량이어서 용기에 오염된 적은 양이라도 결과 수치를 크게 달라지게 할 수 있다. 생물학적 노출지표검사로 쓸 수 있도록 만들어진 용기를 사용하거나 일반 용기는 산 세척 등으로 오염물질을 제거하고 사용하여

야 한다. 시료채취용기로 분석대상물질을 용출시키는 용기를 사용하지 말아야 한다. 예를 들어 초자기구, 고무, 수지에는 납을 사용하고 있는 것이 있으므로 이러한 용기를 사용하면 납이 용출되어 나와서 혈중 또는 요중 연농도를 높일 우려가 있다. 분석대상물질을 흡착시키는 용기도 사용하지 말아야 한다. 일부 물질은 용기에 흡착되어 실제보다 낮은 농도로 나타날 수 있기 때문이다.

시료채취량은 측정 및 분석감도를 고려하여, 분석에 필요한 양을 충분히 확보하여야 한다. 만일을 위해 재분석이 가능한 양을 확보하여 보관하는 것이 좋다. 작업 후 소변을 채취하는데 어려움이 따르는 것을 예방하기 위해 시료채취 2시간 전에는 배뇨를 하지 않도록 사전에 교육한다.

시료를 채취할 때는 작업환경이나 의복에 있는 물질에 오염되는 것을 방지하여야 한다. 특히 소변을 채취할 때는 우선 손을 깨끗이 닦고 난 후 미리 산세척한 용기에 소변을 채취하도록 한다. 그러나, 혈액이나 호기 중 유기용제는 작업 후 급격히 감소하므로 정상 작업 직후에 채취하도록 유의한다.

혈액이나 소변 중 휘발성 유기용제를 분석하려고 하는 경우에는 시료채취용기에 90% 이상 채워 채취하여 마개를 단단히 막은 후 냉장 보관하여 유기용제가 휘발되지 않도록 한다.

라. 시료운반과 보관방법

혈장으로 분석하는 것은 혈액 채취 후 빠른 시간 내에 원심 분리하여 혈장을 확보하고 즉시 분석하지 못하면 분석 대상물질의 성질에 따라 냉장 또는 냉동 보관한다. 소변은 채취하여 아이스박스 등을 이용하여 냉장 상태로 즉시 실험실로 옮긴 후 분석하도록 한다. 전혈 또는 소변 중 중금속을 분석하는 경우 즉시 분석하지 못하는 경우에는 냉동 보관하도록 한다. 냉동보관했던 소변 시료 중 중금속을 분석할 때는 해동 후 침전을 잘 흔들어 균질하게 한 후 시

료를 취해야한다. 소변 중 휘발성 물질의 분석은 2일 이내로 하도록 하여야 하며, 비휘발성 대사물질의 경우 즉시 분석할 수 없고 5일 이내에 분석할 수 있는 때에는 냉장 보관할 수 있으나, 그 이상 지연되는 경우에는 냉동보관을 하도록 한다. 냉동보관했던 소변 시료 중 비휘발성 대사물질을 분석하고자 할 때는 해동한 시료를 원심분리 또는 여과하여 침전을 제거한 상등액을 취하여 분석한다.

마. 시료 분석 및 정도관리

시료의 전처리와 분석은 타당성이 검증된 방법을 사용하여 처리하거나 분석하여야 한다. 분석기기는 도표에 제시한 분석기기를 이용하여야 하며, 분석자는 분석기기의 취급방법을 숙지하고 유지관리를 철저히 하여, 항상 최상의 조건에서 분석할 수 있도록 하여야 한다. 각 실험실에서는 반드시 내부정도관리를 실시하고, 산업안전보건연구원에서 실시하는 분석정도관리 등 외부정도관리에 참여하도록 권장한다. 혈중납과 요중 마노산을 분석하는 경우에는 반드시 분석정도관리에 참여하여 분석 능력을 적합한 수준으로 유지하여야 한다. 기타 항목도 가능하면 분석정도관리에 참여하는 것이 좋다. 부득이 외부 정도관리에 참여할 수 없는 경우에는 노출 근로자의 시료 분석시, 비노출근로자의 시료 분석도 병행하여 대조군 값을 확보하여 비교해 보는 것이 좋다.

바. 요검사에 대한 보정

소변은 지나치게 농축되었거나 묽을 경우 물질의 대사메카니즘에 변화가 일어나 요중 농도가 실제와 다르게 나타날 수 있으므로 이러한 시료는 분석하지 말고 부적합한 시료로 처리하여 버려야 한다. 부적합한 시료는 통상 크레아티닌이 0.5 이하이거나 3.0 이상인 경우, 비중이 1.01이하이거나 또는 1.03 이상인

경우를 말한다.

적합한 시료를 선택한 후 분석값은 물질의 종류에 따라 그냥 사용할 수도 있고, 크레아티닌, 요비중 또는 배설량 등으로 보정하여 사용할 수도 있다. 보정이 필요한 경우 이 지침에서는 크레아티닌 보정 단위로 표시하였으나 아래의 변환식을 사용하여 요비중, 배설량 중 어느 것으로도 보정할 수 있다. 그러나 분자확산 등으로 배설되는 저분자물질은 보정하지 않고 분석결과를 그대로 사용하여 통상 $w \text{ mg(또는 g) / L}$ 로 표시한다. 그러므로, 소변 중 생물학적 지표물질의 농도를 구하거나 활용할 때는 단위를 정확히 기록하고 확인하여야 한다.

크레아티닌 또는 요비중의 측정은 시료분석시점과 동일한 시점에서 행하여야 한다. 크레아티닌, 요비중 또는 배설량으로 보정이 필요한 경우에는 다음과 같은 변환 공식을 이용하여 보정할 수 있다.

① 요비중 보정시: $\text{농도} = 0.02 \times \text{측정농도} / (\text{요비중} - 1)$

② 크레아티닌 보정시: $\text{농도} = \text{측정농도} / \text{크레아티닌농도}$

③ 배설량(w/hr) 보정시: $\text{농도} = \text{측정 소변배설량(L/hr)} \times \text{측정농도(g/L)} / 0.050$

* 소변 배설량 측정은 다음과 같이 한다. 즉, 작업 종료 3시간 전에 소변을 다 누어 방광을 비우게 하고 이때의 시간을 기록한다. 작업종료 직후 눈금있는 500 mL 시료병을 주어 소변을 누게 하고 그 양을 확인하고 이때의 시간을 기록한다.

사. 피부흡수

유기용제류는 호흡기로 흡수되는 것 뿐아니라 피부로도 흡수될 수 있다. 보기에 피부로 표기된 것은 피부로도 흡수될 수 있으므로 작업환경 노출 수준이 낮다하더라도 생물학적 노출지표의 농도는 높게 나타날 수 있다.

아. 노출기준값의 해석

노출기준값은 미국의 생물학적노출기준(BEI)와 독일의 생물학적허용농도(BAT)와 국내의 연구결과를 참조하여 산업안전보건연구원의 생물학적노출기준제정위원회에서 제시하는 수치이다. 외국과 노출기준에 차이가 있는 경우에는 현재 우리나라 노출기준을 기준으로 제시하였다.

표 2 검사값에서 ‘일반인’ 란에 기록된 값은 통상 해당 중금속에 직업적으로 노출되지 않는 사람들의 평균값에 해당하며, 표 2와 3의 노출기준은 작업환경 노출기준에 해당하는 농도에 노출된 근로자에게서 검출되는 평균 농도에 해당한다. 일반인의 값이 제시되지 않은 다른 항목을 조사할 때에 일반 대조군을 분석하여 서로 비교하는 것도 생물학적 노출지표검사 결과 해석에 도움을 줄 수 있다.

자. 자료의 보관

시료 채취일, 시료 채취자, 시료 보관용기, 분석자, 분석일, 사용한 분석 방법, 분석기기 종류 및 조건, 기타 크로마토그램 등을 포함한 분석 관련 자료, 정도관리 관련 자료 등을 기록하여 보관한다.

**연구과제명 : 유해물질 노출 근로자의 생물학적 모니터링을
위한 지표물질 분석법의 표준화 연구 (Ⅲ)**

연구자료 : 연구원 99-00-00

발 행 일 : 1999.12.31.

발 행 인 : 정 호 근

연구책임자 : 양 정 선

발 행 처 : 산업안전보건연구원

전 화 : 032-5100-924

F A X : 032-518-0862