

KOSHA GUIDE

H - 142 - 2021

니켈 및 황화니켈의 생물학적 노출지표 물질
분석에 관한 기술지침

2021. 10.

한 국 산 업 안 전 보 건 공 단

안전보건기술지침의 개요

○ 제정자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 최윤정

○ 제정 경과

- 2013년 6월 Kosha guide 산업위생분야 제정위원회 심의(제정)
- 2021년 8월 산업의학분야 표준제정위원회 심의(법령 및 규격 최신화)

○ 관련규격 및 자료

- 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원. 근로자 건강진단 실무지침: 제1권 특수건강진단의 개요. 2020-산업안전보건연구원-349
- 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원. 생물학적 노출평가 기준 및 분석방법 연구 III: 납 등 중금속 10종. 보건분야-연구자료 연구원 2010-66-882. 2010

○ 관련법규 · 규칙 · 고시 등

- 산업안전보건법 시행규칙 [별표 24] 특수건강진단 · 배치전건강진단 · 수시건강진단의 검사항목(제206조 관련)
- 고용노동부고시 제2020-61호(특수건강진단기관의 정도관리에 관한 고시)
- 고용노동부고시 제2020-60호(근로자 건강진단 실시기준)
- 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원. 「근로자건강진단 실무지침」 제1권 특수건강진단 개요. 2020-산업안전보건연구원-349

○ 기술지침의 적용 및 문의

이 기술지침에 대한 의견 또는 문의는 한국산업안전보건공단 홈페이지(<http://kosha.or.kr>) 안전보건기술지침 소관 분야별 문의처 안내를 참고하시기 바랍니다.

공표일자 : 2021년 10월

제 정 자 : 한국산업안전보건공단 이사장

니켈 및 황화니켈의 생물학적 노출지표 물질 분석에 관한 기술지침

1. 목 적

이 지침은 산업안전보건법(이하 “법”이라고 한다) 제130조(특수건강진단) 및 같은 법 시행규칙(이하 “시행규칙”이라고 한다) 제206조(특수건강진단 등의 검사항목 및 실시방법 등) 별표 24, 고용노동부고시 제2020-61호(특수건강진단기관의 정도관리에 관한 고시) 및 고용노동부고시 제2020-60호(근로자 건강진단 실시기준)에 따라 니켈 및 황화니켈에 노출된 근로자의 생물학적 노출평가와 관련된 노출지표 물질의 분석 방법을 제시함을 목적으로 한다.

2. 적용범위

이 지침은 법, 시행규칙 및 고용노동부고시에 따라 실시하는 근로자 건강진단 중 니켈 및 황화니켈에 노출되는 근로자의 생물학적 노출평가에 적용한다.

3. 정 의

(1) 이 지침에서 사용하는 용어의 뜻은 다음과 같다.

(가) “생물학적 노출평가”란 혈액, 소변 등 생체시료로부터 유해물질 자체 또는 유해물질의 대사산물, 또는 생화학적 변화산물 등을 분석하여 유해물질 노출에 의한 체내 흡수정도 또는 건강영향 가능성 등을 평가하는 것을 말한다.

(나) “생물학적 노출지표 물질”이란 생물학적 노출평가를 실시함에 있어 생체 흡수정도를 반영하는 물질로서 유해물질 자체나 그 대사산물, 생화학적 변화물 등을 말한다.

(다) “정밀도(Precision)”란 일정한 물질에 대하여 반복측정·분석을 했을 때 나타나는 자료분석치의 변동크기가 얼마나 되는가를 나타낸다. 이 경우 같은 조건에

서 측정했을 때 일어나는 우연오차(Random error)에 의한 분산(Dispersion)의 정도를 측정값의 변이계수(Coefficient of variation)로 표시한다.

- (라) “정확도(Accuracy)”란 분석치가 참값에 얼마나 접근하였는가 하는 수치상의 표현이다. 다만, 인증표준물질이 있는 경우는 상대오차로 표시되고, 인증표준물질이 없는 경우는 시료에 첨가한 값으로부터 구한 평균회수율로 표시한다.
- (마) “검출한계(Limit of detection: LOD)”란 공시료 신호값(Blank signal, background signal)과 통계적으로 유의하게 다른 신호값(Signal)을 나타낼 수 있는 최소의 농도를 말한다. 이 경우 가장 널리 쓰이는 대로 공시료 신호값과의 차이가 공시료 신호값 표준편차의 3배인 경우로 한다.

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

4. 분석장비

분석장비는 유도결합플라즈마 질량분석기(Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer, ICP-MS) 또는 비불꽃 원자흡광광도기(Graphite furnace Atomic Absorption Spectrometer, GF-AAS)를 사용한다.

5. 분석방법

5.1 분석 원리 및 시료채취

(1) 분석 원리

가용성 니켈 화합물과 니켈 카르보닐은 흡입시 신속히 흡수되며, 체내에 축적되지는 않고 소변으로 배설되므로 이를 유도결합플라즈마 질량분석기 또는 비불꽃 원자흡광광도기로 분석한다.

(2) 시료의 채취

(가) 시료채취 시기

시료 채취 시기는 특별히 제한하지 않는다.

(나) 시료채취 요령

- ① 채취 용기는 밀봉이 가능한 용기를 사용하고, 시료는 5 mL 이상 채취한다.
- ② 채취한 시료는 시료 채취 용기에 밀봉하여 채취 후 2주 이전에 분석하면 4 ℃ (2 ~ 8 ℃)에서 냉장 보관한다. 단, 분석까지 보관 시간이 2주 이상 걸리는 경우에는 -20 ℃이하에서 냉동 보관한다.

5.2 유도결합플라즈마 질량분석법

(1) 기구 및 시약

- (가) 용량플라스크 100 mL, 10 mL
- (나) 마이크로시린지 10, 100 μ L
- (다) 자동피펫 10-100, 200-1000 μ L
- (라) 시험관과 마개
- (마) 롤러 믹서
- (바) 볼텍스 믹서
- (사) 니켈 표준용액 1000ppm(1000 μ g/mL)
- (아) 질산 특급 시약(검사 관련 중금속의 함량이 적은 것)
- (자) 스칸듐(내부표준시약) ICP용 1000ppm(1000 μ g/mL)
- (차) 탈이온수(18 M Ω /cm 이상)

(2) 시약 조제

(가) 표준용액

- ① 100mL 용량플라스크에 1% 질산을 반쯤 넣고 니켈 표준용액(1000 μ g/mL)을 20 μ L 주입한 후 표선을 맞추어 표준용액 원액을 조제한다.
- ② 표준용액 원액을 각각 0.5, 2.5, 5, 10 mL를 취하고 이를 10 mL 용량플라스크

에서 1% 질산으로 희석하여 10, 50, 100, 200 µg/L의 검량선용 표준용액을 만든다. 이 4가지 농도의 표준용액을 검량선용 표준용액으로 한다. 1% 질산을 공시료(blank)로 한다.

(3) 시료 및 표준용액 전처리

(가) 모든 시료는 거품이 발생하지 않도록 40분간 롤러 믹서로 균질화시킨다.

(나) 산처리가 끝난 시험관에 <표 1>과 같이 시료를 순서대로 주입 후 볼텍스 믹서로 30초간 혼합한다.

<표 1>표준물 첨가법에 의한 시료 및 표준용액 전처리								Unit : mL
순서	물 질	공시료	첨가1	첨가2	첨가3	첨가4	첨가0	시료
1	1% 질산	2.7	2.4	2.4	2.4	2.4	2.7	2.7
2	미첨가 소변	-	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	-
3	시료	-	-	-	-	-	-	0.3
4	탈이온수	0.3	-	-	-	-	-	-
5	표준용액	-	0.3	0.3	0.3	0.3	-	-
6	내부표준용액	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1

(4) 유도결합플라즈마 질량분석기 분석 조건

<표 2> 유도결합플라즈마 질량분석기 분석 조건 예시

Item	Condition
Plasma gas flow	18.00 L/min
Auxiliary gas flow	1.65 L/min
Sheath gas flow	0.16 L/min
Nebulizer gas flow	1.00 L/min
Torch RF generator power	1.40 Kw
Spray chamber cooling temperature	3.01 °C
Pump rate	5 rpm
Stabilization delay	35 second
First extraction lens	- 2.00 volts
Second extraction lens	-159.00 volts
Third extraction lens	- 246.00 volts
Corner lens	- 264.00 volts
Left mirror lens	50.00 volts
Right mirror lens	39.00 volts
Bottom mirror lens	27.00 volts
Entrance lens	0.00 volts
Fringe bias	- 2.30 volts
Entrance plate	- 31.00 volts
Skimmer gas source	80 mL/min

(5) 농도 계산

검량선용 표준용액의 농도를 가로(x)축으로 하고, 내부표준물질의 면적에 대한 니켈 피크 면적의 상대적 비를 세로(y)축으로 하여 검량선을 작성하고, $y = ax + b$ 의 회귀방정식을 통해 니켈의 농도($\mu\text{g/L}$)를 구한다. 요 비중으로 보정한다.

(6) 생물학적 노출 평가 기준

기준값 : 80 $\mu\text{g/L}$

(7) 정밀도(보건분야-연구자료 연구원 2010-66-882 자료 예시)

KOSHA GUIDE
H - 142 - 2021

10, 50, 100 µg/L 농도 수준에서 변이계수 4.6%

(8) 정확도(보건분야-연구자료 연구원 2010-66-882 자료 예시)

1.7, 9.77 µg/L 농도 수준에서 회수율 각각 94.7%, 102.7%

(9) 검출 한계(보건분야-연구자료 연구원 2010-66-882 자료 예시)

(가) 검출한계

0.55 µg/L(S/N 비 3)

(나) 산출방법

$LOD = 3 \times SD$

(LOD : 검출한계, SD : 표준편차)

미첨가 소변을 6회 반복 측정하여 검출된 반응값의 표준편차의 3배를 검출한계로 한다.

5.3 비불꽃 원자흡광광도법(지만 보정 방식)

(1) 기구 및 시약

(가) 용량플라스크 100 mL, 10 mL

(나) 마이크로시린지 10, 100 µL

(다) 자동피펫 10-100, 200-1000 µL

(라) 시험관과 마개

(마) 롤러 믹서

(바) 볼텍스 믹서

(사) 니켈 표준용액 1000ppm(1000µg/mL) stock solution

(아) 질산(검사 관련 중금속의 함량이 적은 것)

(자) 팔라듐(Pd)

(차) 염산

(카) 아스코르빈산

(타) 인산암모늄($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$)

(파) 트리톤 X-100(Triton X-100)

(하) 탈이온수(18 MΩ/cm 이상)

(2) 시약 조제

(가) 표준용액

- ① 100mL 용량플라스크에 1% 질산을 반쯤 넣고 니켈 표준용액(1000 µg/mL)을 40 µL 주입한 후 표선을 맞춘 후 이를 10배 희석하여 표준용액 원액을 조제한다.
- ② 표준용액 원액을 각각 0.125, 0.25, 0.5, 1 mL를 취하고 이를 10 mL 용량플라스크에서 1% 질산으로 희석하여 5, 10, 20, 40 µg/L의 검량선용 표준용액을 만든다. 이 4가지 농도의 표준용액을 검량선용 표준용액으로 한다. 1% 질산을 공시료(blank)로 한다.

(나) 희석액

- ① 100 mL 용량플라스크에 트리톤 X-100 10 mL를 넣고 탈이온수로 표선을 맞추어 10% 트리톤 X-100 용액을 조제한다.
- ② 100 mL 용량플라스크에 인산암모늄 20 g을 넣고 탈이온수로 표선을 맞추어 20% 인산암모늄 용액을 조제한다.
- ③ 100 mL 용량플라스크에 10% 트리톤 X-100 1 mL와 20% 인산암모늄 1 mL, 질산 0.2 mL를 넣고 탈이온수로 표선을 맞추어 희석액을 조제한다.

(다) 조정액

- ① 100 mL 용량플라스크에 팔라듐 1 g과 진한 염산을 넣고 탈이온수로 표선을 맞추어 1% 염화 팔라듐(PdCl_2) 용액을 조제한다. Pd 환원은 시료 조제 바로 전에 해야 한다.
- ② 100 mL 용량플라스크에 아스코르빈산 1 g을 넣고 탈이온수로 표선을 맞추어

1% 아스코르빈산 용액을 조제한다.

- ③ 10 mL 용량플라스크에 1% 염화 팔라듐 용액 0.25 mL와 1% 아스코르빈산 용액 0.25 mL, 탈이온수 4.5 mL를 넣어 조정액을 조제한다.

(3) 시료 및 표준용액 전처리

(가) 모든 시료는 거품이 발생하지 않도록 40분간 롤러 믹서로 균질화시킨다.

(나) 산처리가 끝난 시험관에 <표 1>과 같이 시료를 순서대로 주입 후 볼텍스 믹서로 30초간 혼합한다.

<표 1>표준물 첨가법에 의한 시료 및 표준용액 전처리 (단위 : mL)

순서	물 질	공시료	첨가1	첨가2	첨가3	첨가4	첨가0	시료
1	희석액	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
2	미첨가 소변	0	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0
3	소변 시료	0	0	0	0	0	0	0.3
4	탈이온수	0.3	0	0	0	0	0	0
5	표준용액	0	0.3	0.3	0.3	0.3	0	0
6	1% 질산	0.3	0	0	0	0	0.3	0.3
7	조정액 2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1

(4) 원자흡광광도기 분석 조건 예시

<표 2> 분석 조건

AA condition	
Type	Furnace / Zeeman
Instrument mode	Absorbance
Calibration mode	Standard Additions
Measurement mode	Peak Area
Wavelength	232.0 nm
Slit Width	0.2 nm
Lamp Current	6.0 mA
Background Correction	BC On(Zeeman BC)
Total vol./Sample vol.	25 μ l
Hot Inject	On
Hot Inject Temp.	50 °C

<표 3> 온도 프로그램

Step	Temp (°C)	Time (s)	Flow (L/min)	Gas Type	Read	Signal
1	95	10.0	0.3	Normal	No	No
2	95	30.0	0.3	Normal	No	No
3	120	5.0	0.3	Normal	No	No
4	250	5.0	0.3	Normal	No	No
5	250	10.0	0.3	Normal	No	No
6	1400	5.0	0.3	Normal	No	No
7	1400	3.0	0.3	Normal	No	No
8	1400	3.0	0.3	Normal	No	Yes
9	2700	0.8	0	Normal	Yes	Yes
10	2700	2.0	0	Normal	Yes	Yes
11	2700	2.0	0.3	Normal	No	Yes

(5) 농도 계산

검량선용 표준용액의 농도를 가로(x)축으로 하고, 니켈 피크 면적을 세로(y)축으로 하여 검량선을 작성하고, $y = ax + b$ 의 회귀방정식을 통해 니켈의 농도($\mu\text{g/L}$)를 구한다. 요 비중으로 보정한다.

(6) 생물학적 노출 평가 기준

기준값 : $80 \mu\text{g/L}$

(7) 정밀도(보건분야-연구자료 연구원 2010-66-882 자료 예시)

5, 10, 20 $\mu\text{g/L}$ 농도 수준에서 변이계수 2.5%

(8) 정확도(보건분야-연구자료 연구원 2010-66-882 자료 예시)

12.6, 36.9 $\mu\text{g/L}$ 농도 수준에서 회수율 각각 86.5%, 95.4%

(9) 검출 한계(보건분야-연구자료 연구원 2010-66-882 자료 예시)

KOSHA GUIDE
H - 142 - 2021

(가) 검출한계

1.05 µg/L(S/N 비 3)

(나) 산출방법

$$\text{LOD} = 3 \times \text{SD}$$

(LOD : 검출한계, SD : 표준편차)

미첨가 소변을 6회 반복 측정하여 검출된 반응값의 표준편차의 3배를 검출한계로 한다.