

KOSHA GUIDE

H - 99 - 2023

# 일산화탄소의 생물학적 노출지표물질 분석에 관한 기술지침

2023. 8.

한국산업안전보건공단

안전보건기술지침은 산업안전보건기준에 관한 규칙 등 산업안전보건법령의 요구사항을 이행하는데 참고하거나 사업장 안전·보건 수준향상에 필요한 기술적 권고 지침임

## 안전보건기술지침의 개요

- 작성자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 김현영
- 개정자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 이미영(1차 개정)  
한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 이미영(2차 개정)
- 제·개정 경과
  - 2012년 10월 산업의학분야 제정위원회 심의(제정)
  - 2021년 8월 산업의학분야 표준제정위원회 심의(법령 및 규격 최신화)
  - 2022년 12월 산업의학분야 표준제정위원회 심의(개정)
  - 2023년 7월 산업의학분야 표준제정위원회 심의(개정)
- 관련규격 및 자료
  - 박성우, 최영남, 이광영, 김남이, 김동환, 국립과학수사연구소 화학분석과 혈중 일산화탄소 헤모글로빈의 분석법에 관하여. *Analytical science & technology* 1992;5(1)
  - 한국산업안전공단 산업안전보건연구원. 건강진단 기준상 유해물질 분석법의 표준화 에 대한 연구 (II). 1998
  - 한국산업안전공단 산업안전보건연구원. 유해물질 노출 근로자의 생물학적 모니터링을 위한 지표물질 분석법의 표준화 연구 (II). 1999
  - 김정원 등, 특수건강진단 검사항목 현행화 및 실무지침의 개정 연구, 산업안전보건연구원, 2017-연구원-913, 2017
  - ACGIH. Carbon monoxide. In *Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices*. 2001
  - Beutler E, West C. Simplified determination of carboxyhemoglobin. *Clin Chem* 1984;30(6):871-4
  - Madany IM. Carboxyhemoglobin levels in blood donors in Bahrain. *Sci Total Environ* 1992;116:53-5
- 관련법규·규칙·고시 등
  - 산업안전보건법 시행규칙 [별표 24] 특수건강진단·배치전건강진단·수시건강진단의 검사항목(제206조 관련)
  - 고용노동부고시 제2020조-61호(특수건강진단기관의 정도관리에 관한 고시)
  - 고용노동부고시 제2020조-60호(근로자 건강진단 실시기준)
  - 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원. 「근로자건강진단 실무지침」 제1권 특수 건강진단 개요. 2022-산업안전보건연구원-777
- 안전보건기술지침의 적용 및 문의
  - 이 기술지침에 대한 의견 또는 문의는 한국산업안전보건공단 홈페이지([www.kosha.or.kr](http://www.kosha.or.kr))의 안전보건기술지침 소관 분야별 문의처 안내를 참고하시기 바랍니다.
  - 동 지침 내에서 인용된 관련규격 및 자료, 법규 등에 관하여 최근 개정본이 있을 경우에는 해당 개정본의 내용을 참고하시기 바랍니다.

공표일자 : 2023년 8월 24일

제 정 자 : 한국산업안전보건공단 이사장

## 목 차

1. 목적	1
2. 적용범위	1
3. 용어의정의	1
4. 분석장비	2
5. 분석방법	2
5.1 혈액 중 카복시헤모글로빈 (COHb) 분석	2

# 일산화탄소의 생물학적 노출지표물질 분석에 관한 기술지침

## 1. 목적

이 지침은 산업안전보건법(이하 “법”이라고 한다) 제130조 및 같은 법 시행규칙(이하 “시행규칙”이라고 한다) 제206조(특수건강진단 등의 검사항목 및 실시방법 등) 별표 24, 고용노동부고시 제2020조-61호(특수건강진단기관의 정도관리에 관한 고시) 및 고용노동부고시 제2020조-60호(근로자 건강진단 실시기준)에 따라 일산화탄소에 노출된 근로자의 생물학적 노출평가와 관련된 노출지표물질의 분석방법을 제시함을 목적으로 한다.

## 2. 적용범위

이 지침은 법, 시행규칙 및 고용노동부고시에 따라 실시하는 근로자 건강진단 중 일산화탄소에 노출되는 근로자의 생물학적 노출 평가에 적용한다.

## 3. 용어의 정의

(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 노출지표물질”이란 생물학적 노출평가를 실시함에 있어 생체 흡수정도를 반영하는 물질로서 유해물질 자체나 그 대사산물, 생화학적 변화산물 등을 말한다.
- (다) “검출한계”란 공시료 신호 값과 통계적으로 유의하게 다른 신호 값을 나타낼 수 있는 최소의 농도를 말한다. 이 경우 가장 널리 쓰이는 대로 공시료 신호 값의 차이가 공시료 신호 값 표준편차의 3배인 경우로 한다.

- (2) 그 밖에 이 지침에서 사용하는 용어의 정의는 특별한 규정이 있는 경우를 제외하고는 산업안전보건법, 같은 법 시행령, 같은 법 시행규칙 및 산업안전보건기준에 관한 규칙에서 정하는 바에 따른다.

## 4. 분석장비

분석 장비는 자외가시부 분광광도계 (ultraviolet/visible spectrophotometer; UV/VIS Spectrophotometer)를 이용한다.

## 5. 분석방법

### 5.1 혈액 중 카복시헤모글로빈 (COHb) 분석

#### (1) 시료 채취 및 주의 사항

##### (가) 시료 채취 시기

시료 채취는 작업 종료 후 15분 이내에 채취 한다.

##### (나) 시료채취 요령

- ① 작업 종료 후 15분 이내에 채혈하고, 혈액시료는 EDTA 또는 헤파린 처리된 용기에 플루오르화나트륨을 넣은 후 실험 전까지 밀봉하여 4℃ 암소에 보관한다. 이는 헤모글로빈 변성이나 세균 증식에 의한 일산화탄소 생성을 억제하기 위함이다.
- ② 흡연여부나 직업적 혹은 비직업적 염화메틸렌 노출여부를 모니터링 하여야 하며, 흡연자의 경우는 평가대상에서 제외한다.
- ③ 헤모글로빈의 스펙트럼은 pH의 영향이 크므로 pH 6.5를 유지한다.

##### (다) 주의 사항

- ① COHb 농도가 낮은 경우(20% 미만), 전형적인 COHb 스펙트럼을 얻을 수 없다.
- ② COHb분석에 있어 황 이온이 있을 경우, 황화헤모글로빈(sulfhemoglobin)이 생성되어 UV/VIS 흡수에 간섭을 일으킬 수 있다. 이는 황화헤모글로빈이 환원제인 차아황산나트륨( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ )에 의해 RHb로 환원되지 않기 때문이다.

## (2) 기구 및 시약

- (가) 헤파린 또는 EDTA 처리된 채혈관
- (나) 10 mm×10 mm, 3 mL 석영 셀
- (다) 인산제일칼륨 ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )
- (라) 인산제이칼륨 ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )
- (마) 차아황산나트륨 ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ )

## (3) 시약 조제

## (가) 인산칼륨 완충액

$\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ 를 이용하여 0.1 mol/L, pH 6.85가 되도록 만들어 냉장 보관 한다.

## (나) 용혈액 (Hemolyzing solution)

완충액을 탈 이온수로 10배 희석하고, 필요시 일주일마다 제조한다.

## (다) 일산화탄소 헤모글로빈 희석액 (CO-Hb diluting solution)

20 mL 인산칼륨 완충액에 25 mg 차아황산나트륨을 넣어 만든다 (1.25 mg/mL). 단, 이 용액은 사용 직전에 만든다.

## (4) 시료의 전처리

(가) 시험관에 용혈액을 3 mL 넣고 여기에 전혈을 25  $\mu\text{L}$ 을 첨가하여 흔들어서 혼합한 후 5 분간 반응시킨다.

(나) 다른 시험관에 COHb 희석액 4.6 mL을 넣고, (가)의 반응에서 혼합시킨 용액 0.4 mL를 취하여 첨가한 후 가볍게 흔들어 혼합하고, 10분간 상온에 둔다.

(다) 420 nm와 432 nm에서 흡광도를 읽는다.

(대조 셀에는 COHb 희석액 만을 넣어서 측정한다)

## (5) 농도 계산

(가) 검출 파장: 420, 432 nm

## (나) 계산

혈액 중에서 COHb의 분율을  $S_{CO}$ 로 나타내고 계산식은 다음과 같다.

$$S_{CO} = \frac{1 - (A_R \times F_1)}{A_R(F_2 - F_1) - F_3 + 1}$$

$A_R$ : COHb 희석액을 넣어 측정한 표본의  $A_{420}/A_{432}$ 의 비율

$F_1$ =Hb의  $A_{432}/A_{420}$ 의 비율=1.333

$F_2$ =CO의  $A_{432}/Hb$ 의  $A_{420}$ 의 비율=0.4787

$F_3$ =CO의  $A_{420}/Hb$ 의  $A_{420}$ 의 비율=1.9939

## (다) 검정과정

- ① 6 mL 용혈액에 비흡연자로부터 채취한 혈액 0.05 mL을 첨가하여 준비한다.  
이것을 2 mL씩 취해서 2개의 25 mL 용량플라스크에 각각 넣고, 이 중 한 플라스크에는 30 분간 일산화탄소를 통과시키면서 자주 흔들어 섞는다.
- ② 다른 플라스크에는 CO가 녹아들지 않도록 하기위해 고밀도 램프 같은 밝은 빛을 쏘이면서 2 시간동안 공기를 통과시킨다.
- ③ CO 또는 공기의 평형이후, 각각의 플라스크에 COHb 희석액을 넣고 몇 번 뒤집어서 섞는다.
- ④ COHb 희석액 만 넣은 것을 공시료로 해서 420 nm와 432 nm에서 흡광도를 측정한다.
- ⑤ COHb 희석액을 첨가한 후, 즉시 CO평형 표본의 흡광도를 측정하도록 한다.  
이 측정된 흡광도 값으로 아래와 같이  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $F_3$ 을 계산한다.

$$F_1 = \frac{\text{absorbance } 0\% \text{ } 432 \text{ nm}}{\text{absorbance } 0\% \text{ } 420 \text{ nm}} = 1.333$$

$$F_2 = \frac{\text{absorbance } 100\% \text{ } 432 \text{ nm}}{\text{absorbance } 0\% \text{ } 420 \text{ nm}} = 0.4787$$

$$F_3 = \frac{\text{absorbance } 100\% \text{ } 420 \text{ nm}}{\text{absorbance } 0\% \text{ } 420 \text{ nm}} = 1.9939$$

## (6) 생물학적 노출 평가 기준

혈액 중 카복시헤모글로빈의 생물학적 노출 평가 기준 값 : 3.5% 이하

## 지침 개정 이력

### □ 개정일 : 2022. 12.

- 개정자 : 산업안전보건연구원 이미영
- 개정사유 : 일산화탄소의 생물학적 노출평가 시료 채취 시기 오류 수정
- 주요 개정내용
  - 시료 채취 시기를 작업 종료 후 15분 이내로 변경

### □ 개정일 : 2023. 8. 24.

- 개정자 : 산업안전보건연구원 이미영
- 개정사유 : 혈액 중 카복시헤모글로빈의 생물학적 노출평가 기준값 오류 수정(5% 이하에서 3.5% 이하로 수정)
- 주요 개정내용
  - 혈액 중 카복시헤모글로빈의 생물학적 노출 평가 기준 값 : 3.5% 이하