

KOSHA GUIDE

H - 141 - 2021

크롬의 생물학적 노출지표 물질 분석에 관한
기술지침

2021. 10.

한 국 산 업 안 전 보 건 공 단

안전보건기술지침의 개요

- 제정자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 최윤정
- 개정자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 이미영

○ 제정 경과

- 2013년 6월 KOSHA GUIDE 산업위생분야 제정위원회 심의(제정)
- 2019년 11월 KOSHA GUIDE 산업의학분야 제정위원회 심의(개정)
- 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

제정자 : 한국산업안전보건공단 이사장

크롬의 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 크롬에 노출된 근로자의 생물학적 노출평가와 관련된 생물학적 노출지표 물질의 분석 방법의 제시를 목적으로 한다.

2. 적용범위

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

3. 정 의

(1) 이 지침에서 사용하는 용어의 뜻은 다음과 같다.

- (가) “생물학적 노출평가”란 혈액, 소변 등 생체시료 중 유해물질 자체 또는 유해물질의 대사산물이나 생화학적 변화산물 분석값을 이용한, 유해물질 노출에 의한 체내 흡수정도 또는 건강영향 가능성 등의 평가를 의미한다.
- (나) “생물학적 노출지표 물질”이란 생물학적 노출평가를 실시함에 있어 생체 흡수정도를 반영하는 물질로서 유해물질 자체나 그 대사산물, 생화학적 변화물 등을 말한다.
- (다) “생물학적 노출기준값”이란 일주일에 40시간 작업하는 근로자가 고용노동부고시에서 제시하는 작업환경 노출기준 정도의 수준에 노출될 때 혈액 및 소변 중에서 검출되는 생물학적 노출지표물질의 값이다.
- (라) “정밀도(Precision)”란 일정한 물질에 대하여 반복측정·분석을 했을 때 나타나

는 자료분석치의 변동의 크기를 나타낸다. 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, 인증표준물질이 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 뜻은 이 지침에서 특별히 규정하는 경우를 제외하고는 법, 같은 법 시행령, 같은 법 시행규칙 및 「산업보건기준에 관한 규칙」에서 정하는 바에 따른다.

4. 분석개요

소변 중 크롬을 분석하며, 분석장비는 비불꽃 원자흡광광도기(Graphite furnace Atomic Absorption Spectrometer, GF-AAS)를 사용한다.

5. 분석방법

5.1 소변 중 크롬

5.1.1 분석원리 및 시료채취

(1) 분석 원리

수용성 6가 크롬은 흡입, 눈과 피부 접촉에 의해 3가 크롬(유입량 중 0.2 ~ 3 % 흡수)이나 4가 크롬(유입량 중 1 ~ 10 % 흡수)에 비해 빠르게 체내에 흡수되며, 체내로 흡수된 6가 크롬은 쉽게 세포막을 통과하며, 효소에 의해 모두 3가 크롬으

로 환원된다. 수용성 6가 크롬이 환원된 3가 크롬은 단백질과 결합되어 적혈구, 뼈, 신장 등에 분포하여 수년에 걸쳐 천천히 배출되기도 하나, 노출되는 동안과 노출 후 수시간 내에 소변을 통해 빠르게 배출된다. 배출된 소변 중 크롬을 비불꽃 원자흡광광도기로 분석한다.

(2) 시료 채취

(가) 시료채취 시기

목요일이나 금요일 또는 4~5일간 연속 작업 종료 2시간 전부터 직후에 채취한다. 증감성을 확인하기 위해서는 당일 작업 시작 전과 작업 종료 2시간 전부터 직후에 채취한다.

(나) 시료채취 요령

- ① 채취 용기는 밀봉이 가능한 용기를 사용하고, 시료는 10 mL 이상 채취한다.
- ② 채취한 시료 용기를 밀봉하고 채취 후 5일 이전에 분석하며 4 °C(2~8 °C)에서 보관한다. 단, 분석까지 보관 기간이 5일 이상 걸리면 시료를 냉동보관용 저온 바이알에 옮겨 영하 20 °C 이하에서 보관한다.

5.1.2 비불꽃원자흡광광도법

(1) 기구 및 시약

(가) 기구

- ① 용량플라스크 100, 10 mL
- ② 마이크로시린지 10, 100 μ L
- ③ 자동피펫 10-100, 200-1000 μ L
- ④ 시험관과 마개
- ⑤ 롤러 믹서
- ⑥ 볼텍스 믹서

(나) 시약

- ① 크롬 표준용액 1000 ppm(1000 μ g/mL)

- ② 질산 특급 시약(검사 관련 중금속의 함량이 적은 것)
- ③ 인산암모늄($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$)
- ④ 트리톤 X-100(Triton X-100)
- ⑤ 탈이온수(18 MΩ/cm 이상)

(2) 시약 조제

(가) 표준용액

- ① 100 mL 용량플라스크에 1 % 질산을 반쯤 넣고 크롬 표준용액(1000 µg/mL)을 100 µL 주입한 후 표선을 맞추어 표준용액 원액을 제조한다.
- ② 표준용액 원액을 각각 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2 mL를 취하고 이를 10 mL 용량플라스크에서 1 % 질산으로 희석하여 2.5, 5, 10, 15, 20 µg/L의 검량선용 표준용액을 만든다. 이 5가지 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 % Tr X-100 용액을 조제한다.
- ② 100 mL 용량플라스크에 인산암모늄 20 g을 넣고 탈이온수로 표선을 맞추어 20 % 인산암모늄 용액을 제조한다.
- ③ 100 mL 용량플라스크에 10 % 트리톤 X-100 1 mL와 20 % 인산암모늄 용액 1 mL, 질산 0.2 mL를 넣고 탈이온수로 표선을 맞추어 희석액을 제조한다.

(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	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
2	소변	-	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
3	탈이온수	0.1	-	-	-	-	-	-
4	표준용액	-	0.1	0.1	0.1	0.1	-	-
5	1 % 질산	0.1	-	-	-	-	0.1	0.1

(4) 원자흡광광도기 분석 조건

(가) 분석조건 예시

<표 2> 분석 조건

AA condition	
Type	Furnace / Zeeman
Instrument mode	Absorbance
Calibration mode	Standard Additions
Measurement mode	Peak Height
Wavelength	357.9 nm
Slit Width	0.5 nm
Lamp Current	5.0 mA
Background Correction	BC On
Total vol./Sample vol.	20 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	90	10	0.3	Normal	No	No
2	90	10	0.3	Normal	No	No
3	110	15	0.3	Normal	No	No
4	110	10	0.3	Normal	No	No
5	1100	15	0.3	Normal	No	No
6	1100	15	0.3	Normal	No	No
7	1100	2	0.3	Normal	No	Yes
8	2600	0.8	0	Normal	Yes	Yes
9	2600	2	0	Normal	Yes	Yes
10	2750	2	0.3	Normal	No	Yes
11	2750	5	0.3	Normal	No	No

KOSHA GUIDE
H - 141 - 2021

(5) 농도 계산

검량선용 표준용액의 농도를 가로(x)축으로 하고, 크롬 피크 면적을 세로(y)축으로 하여 검량선을 작성하고, $y = ax + b$ 의 회귀방정식을 통해 크롬의 농도($\mu\text{g/L}$)를 구한다. 크롬의 농도값을 크레아티닌으로 보정하여($\mu\text{g/g}$ 크레아티닌) 크롬의 생물학적 노출평가 결과값을 계산한다.

(6) 생물학적 노출 평가 기준

(가) 기준값 : $30 \mu\text{g/g}$ 크레아티닌

(7) 정밀도

예) 5, 10, 20 $\mu\text{g/L}$ 농도 수준에서 변이계수 2.9 %

(8) 정확도

예) 10, 20 $\mu\text{g/L}$ 농도 수준에서 회수율 각각 99.6 %, 93.1 %

(9) 검출 한계

(가) 검출한계

예) $0.15 \mu\text{g/L}$ (S/N 비 3)

(나) 산출방법

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

(LOD : 검출한계, SD : 표준편차)

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